UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY
JUL 22 '60

EXPERIENTIA

UNIVERSITATI BASILIENSI QUINGENARIAE
BASILIENSES QUI SUNT EXTRA MUROS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
P. HUBER · R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA
Basel Lausanne Bern Zürich
Redactor: H. MISLIN, Basel-Mainz

BIRKHÄUSER VERLAG BASEL
SUISSE – SCHWEIZ – SVIZZERA – SWITZERLAND

SOMMAIRE – INHALT – SOMMARIO – CONTENTS

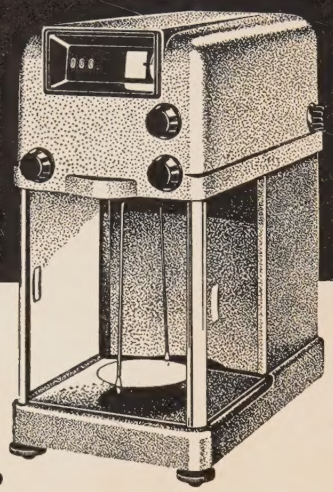
Praefatio redactoris 216
W. Haeberli: Scattering of α-Particles from Nuclei 217
P. Preiswerk: Hochenergiephysik 222
G. H. Wannier: The Particle Concept and Solid State Physics 229
A. Rittmann: Fortschritte der Vulkanologie 232
W. Sperling und H. Kuhn: Vorgänge bei pH-Änderung und bei Belichtung eines Anthocyanidins 237
E. Schlittler and W. I. Taylor: A View of Progress in the Chemistry of Indole Alkaloids 244
E. Sorkin: On the Structure and Production of Antibodies . 249
H. Bloch: How Specific is Immunity? 255
E. Suter: On the Role of Non-Specific Factors in the Pathogenesis of Infectious Disease 258
K. F. Meyer: Some Remarks Concerning the Ecology of Bedsonia Infections 261
E. Heitz: Zur Kenntnis des lamellaren Musters in ausgewachsenen und der Kristallgitterstruktur in jungen Chloroplasten 265
E. Bösiger: Sur le rôle de la sélection sexuelle dans l'évolution 270
E. Witschi: Genetic and Postgenetic Sex Determination . . 274

Brèves communications – Kurze Mitteilungen – Brevi comunicazioni – Brief Reports

F. Vester: Zur Indikation biochemischer Vorgänge durch kristallisierendes Kupferchlorid 279
M. E. Lemppenau: Über die Entstehung von Mehrfachbildungen der Flügelimaginalscheibe bei Großschmetterlingen . . 281
N. Emmelin, L. Malm, and R. Strömblad: Functional Union Between Hypoglossal and Postganglionic Parasympathetic Nerve Fibres 282
P. A. Stadler, A. Eschenmoser, E. Sundt, M. Winter und M. Stoll: Notiz über das Vorkommen isoprenoider C_5-Alkohole in ätherischen Ölen 283
F. Vella: Erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and Thalassemia 284
C. Cavallero and P. Morera: Effect of Testosterone on the Nuclear Volume of Exorbital Lacrimal Glands of the White Rat (Glandula lacrimalis praeparotidea) 285
Erna Reinholz, V. Belloch-Zimmermann und Christl Wirth: Zur Methodik der Gefrierschnitt-Mikroautoradiographie (Pro Experimentis) 286
A. Maggiora, R. Brun et W. Jadassohn: Effet de divers bois sur certains micro-organismes *in vitro* 287
Congressus/Nota 288

Mettler

Analysenwaagen Typ H 200 mg optische Skala



H15 Makro
H16 Halbmikro

Unser Ziel ist, laufend neue Instrumente zu entwickeln, die den steigenden Anforderungen in Forschung und Industrie jederzeit entsprechen, die einfach konzipiert und damit betriebssicher sind.
E. Mettler, Pelikanstrasse 19, Zürich

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia XVI/6

C. Bittmann, Basel
Ciba AG., Basel
Emser Werke AG., Zürich
Ganz Optar AG, Zürich
J. R. Geigy A.G., Basel
E. Haefely & Cie. AG., Basel
F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel
Koehler, Bosshardt & Cie., Basel
Lonza A.G., Basel
E. Mettler, Zürich
Philips AG., Zürich
Les Laboratoires Roussel, Paris
Sandoz A.G., Basel
P. Welker AG., Basel
Wild Heerbrugg AG, Heerbrugg

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Abonnement pour un an frs. 68.–. Ce prix s'entend en francs suisses.

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Ausland durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. Der Abonnementspreis beträgt Fr. 68.–.

Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 220.–, $^1/_2$ Seite Fr. 132.–, $^1/_4$ Seite Fr. 77.–. Inseratenannahme durch den Verlag.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e puo esser richiesta ad ogn libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. L'abbonamento annuo è di fr. 68.–. Il prezzo vanno intesi in valuta svizzera.

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price by annual subscription is fr. 68.–. Price in Swisscurrency.

Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 220.–, $^1/_2$ page fr. 132.–, $^1/_4$ page fr. 77.–. Advertisements should be sent to the publishers.

© *1959 Birkhäuser Verlag, Basel 10 Schweiz, Elisabethenstrasse 19, Telephon (061) 23 18 10; Telegrammadresse: Edita Basel*

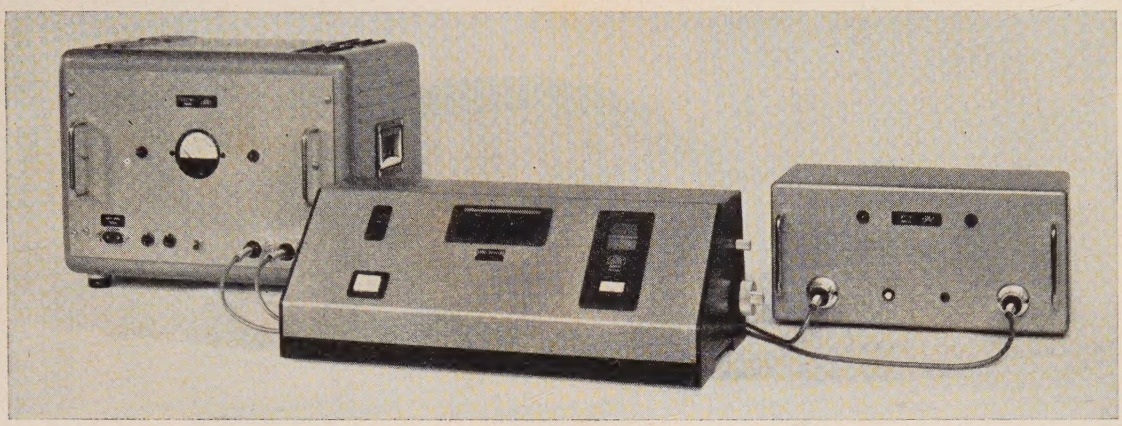
Printed in Switzerland by Birkhäuser AG., Basel

ZEISS

Lichtelektrisches Präzisionspolarimeter 0,005°

Besondere Merkmale:

- Hohe Meßgenauigkeit
- Frei von persönlichen Einstellfehlern und frei von Parallaxe
- Ermüdungsfreie Reihenmessung und denkbar einfache Bedienung
- Automatische Empfindlichkeitsregelung



Bitte verlangen Sie den Prospekt Nr. 50–381/C

Zuverlässige Beratung und Service durch eigenes Fachpersonal

CARL ZEISS

Generalvertretung für die Schweiz:

GANZ *Optar* AG

ZÜRICH

Bahnhofstr. 40 Tel. (051) 25 16 75

Säureschutz-Bau

Ausführung sämtlicher Säureschutz-Arbeiten

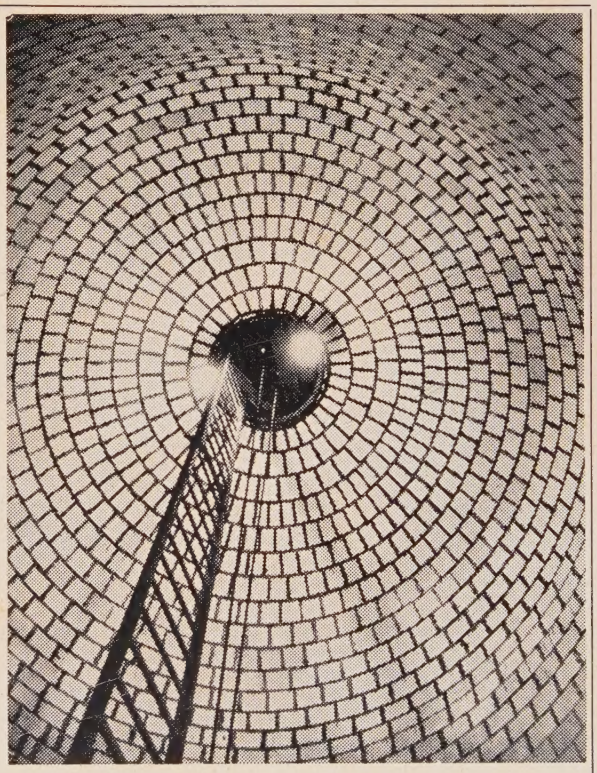
Säure-, alkali- und lösungsmittelbeständige Auskleidung von:
Reaktionskessel
Lagerbehälter

Rührerverkleidung mit Kunstharz

Neutralisieranlagen

Bodenbeläge

Ablaufrinnen System Welker



Paul Welker AG.

Basel, Solothurner Strasse 57
Telephon (061) 34 19 34

*

Philips für Licht, Ton und Bild

Abteilung Apparate:
Radioapparate, Autoradios
Televisions-Empfänger
Hi-Fi- und Stereo-Anlagen
Tonbandgeräte, Portable-Apparate, Grammo-Artikel

Abteilung Schallplatten:
Marken Philips und Fontana

Abteilung Kleinapparate:
Trockenrasierapparate
Philishave und Ladyshave
Kaffeemühlen

Abteilung Glühlampen:
Tageslichtlampen, normale Beleuchtungslampen
Autolampen, Photolampen
Projektionslampen
Skalabeleuchtungslampen
Verspiegelte Lampen

Abteilung Philora:
Quecksilber-Leuchtstofflampen, Quecksilberlampen, Natriumlampen
Fluoreszenzlampen
Infrarot-Trockenstrahler
Mischlichtlampen
Vorschaltgeräte, Starter
Fassungen, Leuchten
Blau-aktinische Lampen

Kino-Apparate

Abteilung Spezialprodukte:
Diamantziehsteine
Bakelit- und Plastikartikel

Abteilung Chemie:
Pharmazeutisch-Chemische Produkte der N. V. Philips-Duphar, Isotopen
Vitamin-Konzentrate

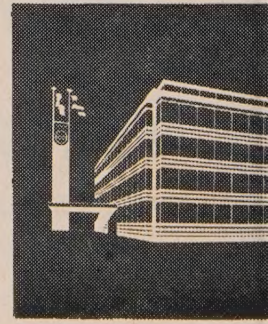
Abteilung Electronica:
Elektronenröhren
Halbleiter, Senderöhren

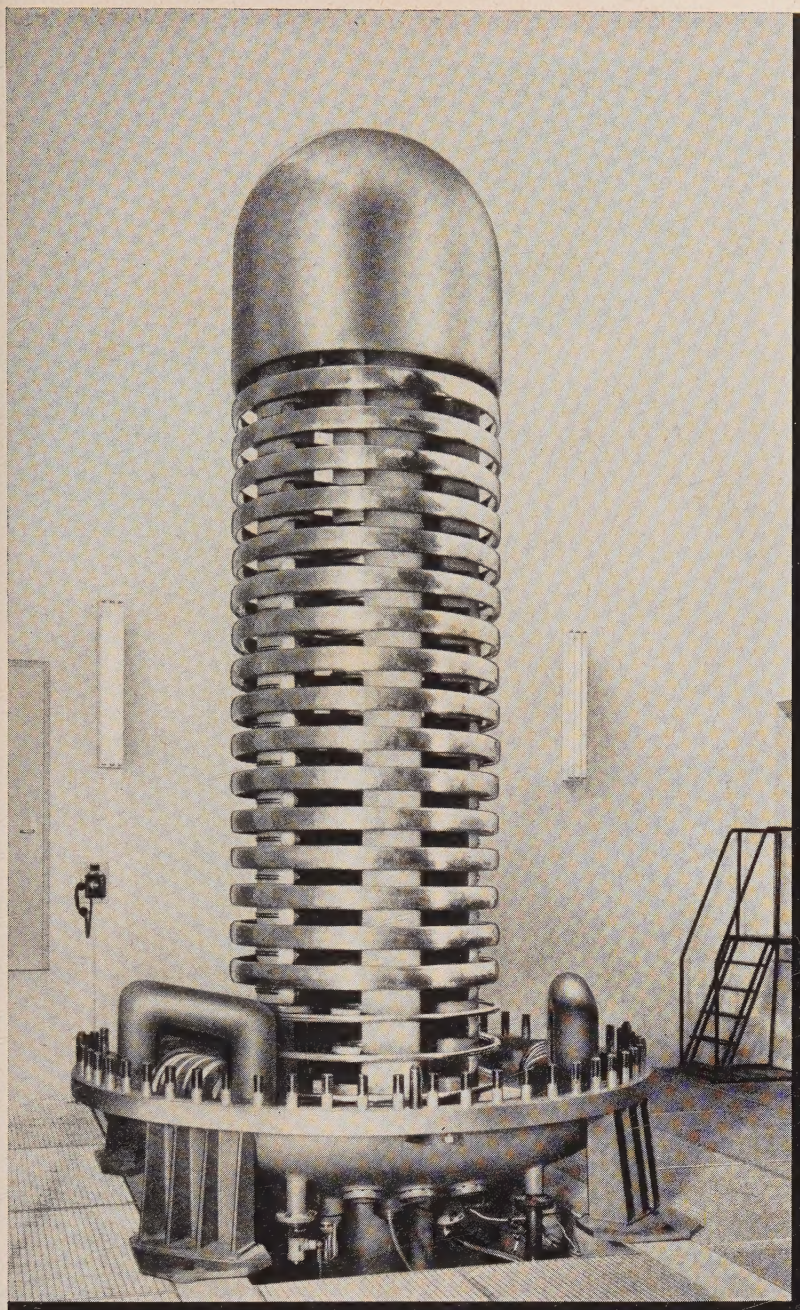
Abteilung Industrie:
Elektronische Apparate
Wellenmesser
Messgeräte, Regelapparate
Materialprüfgeräte

Abteilung Telecommunication:
Telephonie
Telegraphie, Sende- und Empfangsanlagen
Professionelle Messgeräte
Elektroakustik
Fernsehanlagen für industrielle und wissenschaftliche Zwecke
Lautsprecheranlagen

Abteilung Röntgen u
medizinische Apparat
Röntgendiagnostikan
Apparate für die medizinische Forschu

Philips AG Zürich 27
Tel. (051) 25 86 10 / 27
Hauptsitz Edenstrass





HAEFELY

Partikelbeschleuniger bis 4 MV mit hohem Strahlstrom

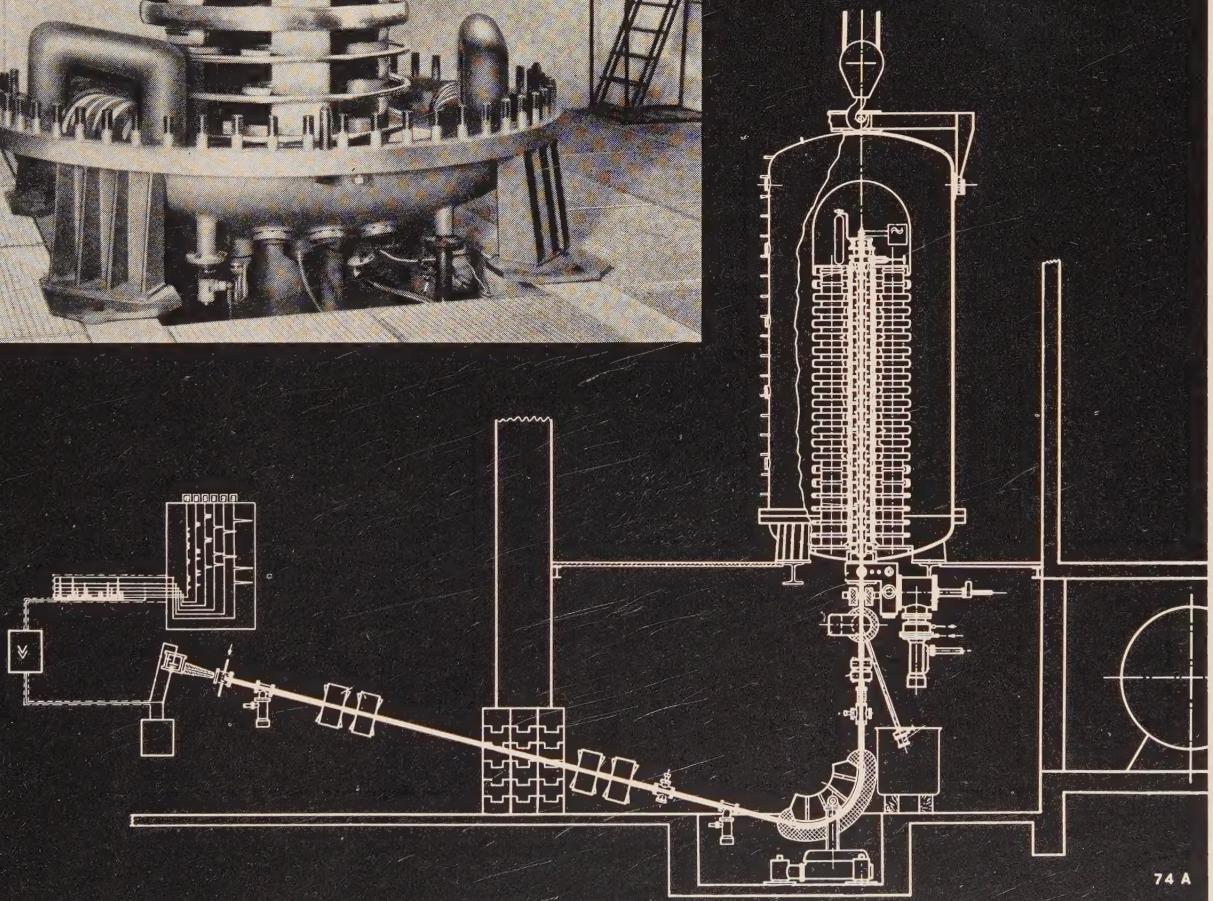
für die industrielle Anwendung

kontinuierliche Bestrahlung von Kunststoffen

Sterilisation von Nahrungsmitteln und Medikamenten

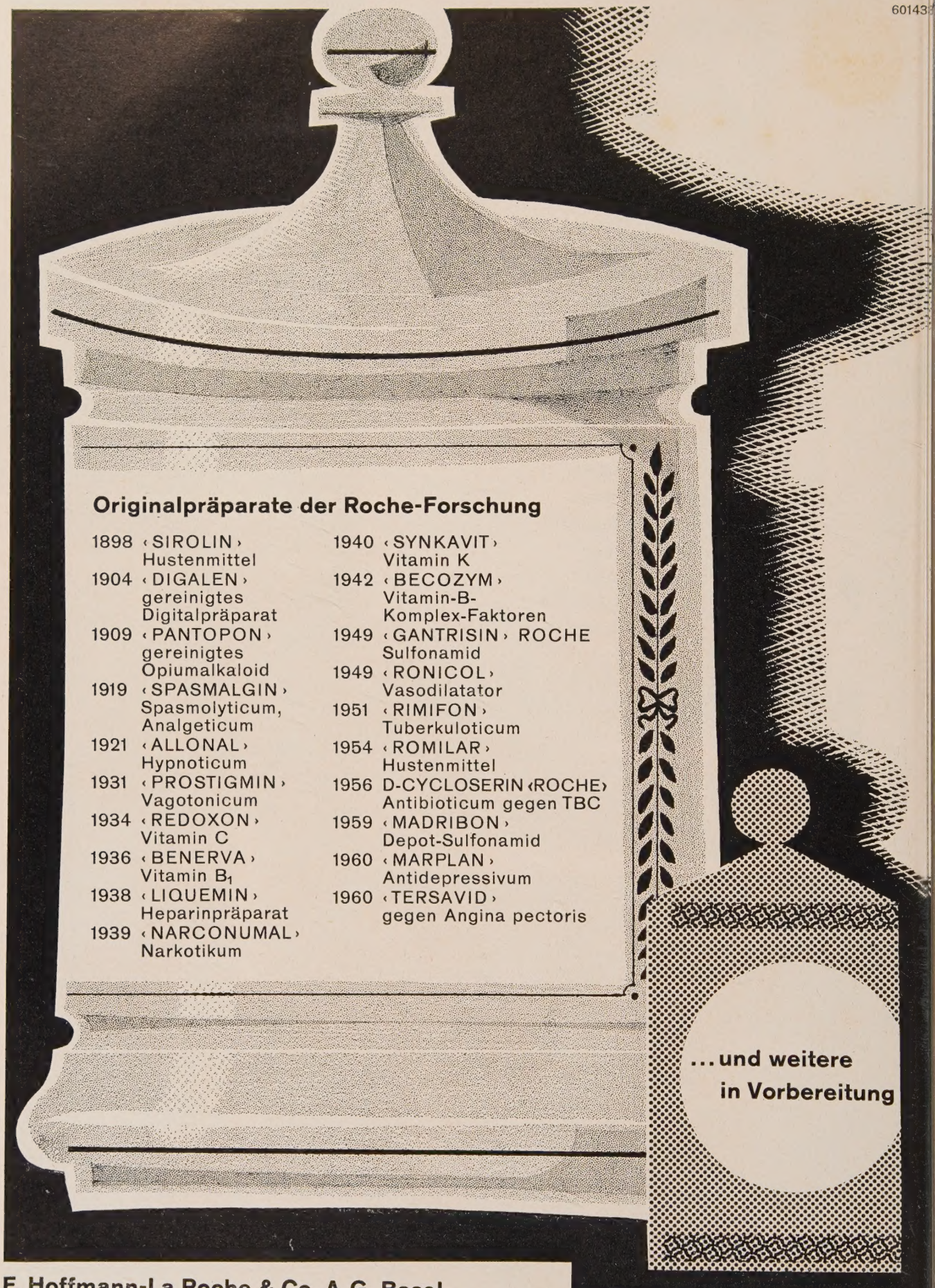
Röntgenanlagen zur zerstörungsfreien Materialprüfung

für die kernphysikalische Forschung



74 A

EMIL HAEFELY & CIE AG BASEL-SCHWEIZ



Originalpräparate der Roche-Forschung

1898 ‹SIROLIN› Hustenmittel
1904 ‹DIGALEN› gereinigtes Digitalpräparat
1909 ‹PANTOPON› gereinigtes Opiumalkaloid
1919 ‹SPASMALGIN› Spasmolyticum, Analgeticum
1921 ‹ALLONAL› Hypnoticum
1931 ‹PROSTIGMIN› Vagotonicum
1934 ‹REDOXON› Vitamin C
1936 ‹BENERVA› Vitamin B_1
1938 ‹LIQUEMIN› Heparinpräparat
1939 ‹NARCONUMAL› Narkotikum
1940 ‹SYNKAVIT› Vitamin K
1942 ‹BECOZYM› Vitamin-B-Komplex-Faktoren
1949 ‹GANTRISIN› ROCHE Sulfonamid
1949 ‹RONICOL› Vasodilatator
1951 ‹RIMIFON› Tuberkuloticum
1954 ‹ROMILAR› Hustenmittel
1956 D-CYCLOSERIN ‹ROCHE› Antibioticum gegen TBC
1959 ‹MADRIBON› Depot-Sulfonamid
1960 ‹MARPLAN› Antidepressivum
1960 ‹TERSAVID› gegen Angina pectoris

...und weitere in Vorbereitung

F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G. Basel

UNIVERSITATI BASILIENSI QUINGENARIAE
BASILIENSES QUI SUNT EXTRA MUROS

PRAEFATIO REDACTORIS

Der lapidare Ausspruch des damaligen Basler Stadtarztes Theophrastus Paracelsus aus dem Jahr 1527 «Scientia est experientia» steht bekanntlich als Leitmotiv am Kopfe unserer Zeitschrift. Wie kaum ein zweiter war er zukunftsweisend für die heraufkommende Naturwissenschaft. Paracelsus ist nur relativ kurze Zeit Lehrer an der Alma Mater Basiliensis gewesen, die ihn nicht in ihren Lehrkörper aufnahm. Die Fakultäten lehnten diesen widerspruchsvollen, vielseitigen und genialischen, schwer enträtselbaren Geist ab. Man litt ihn nicht und es litt ihn nicht im Forum universitatis: Prototyp des Anregers von aussen! Semper ex exilio! Obwohl nicht Basler von Geburt und Tradition, verfügte er in hohem Masse über die echt baslerische Gabe der Ironie, des Spottes und einer unerbittlichen Kritik, die ihn zum dynamischen Bahnbrecher der experimentellen Naturwissenschaften werden liess. Viele Generationen mussten vergehen, bis – wohl erst in unserer Zeit – die Bedeutung seines gewaltigen Wirkens im ganzen, und von manchen chaotischen Zügen befreit, gesehen werden kann.

Als ein Memento an die Gegenwart mag gelten, dass Paracelsus auf die Synthese und Integration aller Kräfte von Geist und Seele des Menschen hinzielt, jede Einseitigkeit zur Ganzheit wendet und dass er damit die Universität mit ihrem steten Hang zur Diversität auf die Universalität hinweist.

Wenn wir heute mit einer Reihe von Arbeiten der «Exilbasler» der Heimatuniversität den Gruss zur Feier ihres fünfhundertjährigen Bestehens entbieten, so soll dies zum freudigen Anlass genommen werden, der Vergessenheit die Einsicht zu entreissen, dass erst die Gemeinschaft der Cives intra muros und der Cives extra muros das Ganze bildet, «dass auf höherer Stufe sich vereint, was auf tieferer sich trennte».

«Scientia est experientia» – cette sentence lapidaire, formulée en 1527 par Theophrastus Paracelsus, alors médecin de la ville de Bâle, figure, on le sait, comme épigraphe en tête de notre Revue. On ne saurait guère trouver, à cette époque-là, d'adage plus lourd de conséquences pour l'avenir des Sciences. Paracelse ne professa que peu de temps à l'Alma Mater Basiliensis qui, d'ailleurs, ne l'agrégea pas à son corps enseignant. Les Facultés récusèrent cet esprit à la fois vaste et contradictoire, génial et indéchiffrable. Prototype de l'initiateur étranger, semper ex exilio, on ne l'admettait pas et il ne tenait pas lui-même au «Forum universitatis». Quoiqu'il ne fût pas Bâlois de naissance ni de tradition, il disposait de ces qualités éminemment bâloises de l'ironie, du sarcasme et de cet esprit inexorablement critique qui fit de lui le dynamique pionnier des sciences expérimentales. Il a fallu que passent bien des générations avant que l'on sût apprécier toute la portée de son immense activité; une vue d'ensemble, épurée de bien des traits chaotiques en était, semble-t-il, réservée à notre époque.

On peut considérer comme un mémento à l'adresse des temps actuels le fait que Paracelse cherchait la synthèse et l'intégration de toutes les forces humaines: dons de l'esprit et forces de l'âme, et qu'il savait que toute discipline particulière mène à la compréhension du tout, indiquant ainsi à l'Université la voie de l'universalité en dépit de son constant penchant pour la diversité.

En publiant aujourd'hui une série de travaux par lesquels les «Bâlois en exil» présentent leur hommage à leur Université à l'occasion du cinquième centenaire de sa fondation, nous entendons arracher à l'oubli cette vérité que seule la communauté des «cives intra muros» et des «cives extra muros» forme le tout et que dans un plan supérieur, ce qui était séparé s'unit.

Come è noto sta scritto in testa alla nostra Rivista il famoso motto lapidario del medico della città di Basilea Teophrastus Paracelsus dell'anno 1527 «Scientia est experientia». Come nessun altro esso fu indicativo per l'avvenire delle Scienze Naturali allora in sviluppo. Paracelso rimase solo per poco tempo insegnante all'Alma Mater Basiliensis, che non l'assunse nel suo corpo d'insegnamento. Le Facoltà rifiutarono quest'uomo di spirito contradittorio, versatile e geniale, spesso inspiegabile. Non lo si poteva soffrire, nè lo si poteva soffrire nel Forum universitatis: il prototipo dell'animatore dal di fuori! Semper ex exilio! Nonostante non fosse basilese nè per nascita nè per tradizione, era abbondantemente dotato del dono prettamente basilese dell'ironia, dello scherno e di una critica inesorabile che lo fecero diventare il precursore dinamico delle scienze naturali sperimentali. Dovettero passare molte generazioni, prima che – forse solo in questi tempi – si potesse comprendere l'importanza della sua prodigiosa opera nel suo insieme, e liberata da certi tratti caotici.

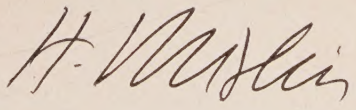
Per il presente valga il Memento, che Paracelso tende verso la sintesi e l'integrazione di tutte le forze dello spirito e dell'anima umana, volge ogni parzialità verso la totalità e che conciò dirige l'Università colla sua ferma tendenza alla diversità verso l'universalità.

Porgendo oggi alla nostra università in omaggio al suo 500° anniversario un numero di lavori di «Basilesi in esilio» desideriamo strappare all'oblio il riconoscimento che solo la comunità dei Cives intra muros coi Cives extra muros forma l'intero e «che si riunisce ad un livello superiore ciò che si separò a quello inferiore».

The pithy maxim of the city doctor of Basle in 1527, Theophrastus Paracelsus: «Scientia est experientia» is the motto which appears at the head of our journal. No saying could have been more appropriate for the new young science of the study of nature. Paracelsus was a teacher at the Alma Mater Basiliensis for a relatively short time only, for he was not accepted into the teaching staff of the University. The Faculties rejected the contradictory, many-sided, incomprehensible genius. He could not be fitted into the Forum universitatis, neither could he fit it to him: the very prototype of the external stimulator! Semper ex exilio! Although he was not a Basler by birth and tradition, he was gifted to a high degree with the true Basle talent of irony, mockery and merciless criticism which made him the pioneer of experimental natural science. Many generations were to pass away before at last, in our own times, the true significance of his powerful influence can be seen as a whole, freed of so much chaotic detail.

It may be taken as his message to the present time that Paracelsus aimed at the synthesis and integration of all the forces of mind and soul of man, guiding the study of the particular towards the study of the whole, and urging the University, with its constant bent for diversity, towards the goal of universality.

The fact that we are publishing today a series of papers from "exiled Baslers", to greet the Home University on the occasion of her 500-year celebrations, should be taken as a happy opportunity to recall from oblivion the notion that it is the synthesis of the Cives intra muros together with the Cives extra muros which builds the whole: "that at the higher levels merge, which lower separate."



EXPERIENTIA

Vol. XVI – Fasc. 6 Pag. 217–288 15. VI. 1960

Scattering of α-Particles from Nuclei

By W. HAEBERLI*

1. Introduction

In the history of modern physics one of the important developments was a paper published in 1911 by RUTHERFORD on *The Scattering of α- and β-Particles by Matter and the Structure of the Atom.* In this paper[1] the theory was proposed that the atom consists of «a central charge supposed concentrated at a point... surrounded by a compensating charge of electrons». More specifically, the assumption was that atoms consist of positive centers (nuclei) which contain most of the atomic mass and which have a radius of less than 3×10^{-12} cm, surrounded by a cloud of electrons of about 10^{-8} cm radius. The experiments which led RUTHERFORD to this conclusion were observations by GEIGER and MARSDEN that α-particles traversing matter are occasionally deflected ('scattered') by very large angles. These large deflections occurred too frequently to be explained as the accidental cumulative effect of many small scatterings. According to RUTHERFORD's theory α-particles are deflected by a large angle in a single collision with an atom. The source of the large force which is necessary to scatter a fast-moving α-particle was seen in the very strong electric field near the nucleus.

Assuming that the force between an α-particle and a nucleus follows Coulomb's law of electrostatic repulsion, RUTHERFORD predicted quantitatively how the number of α-particles scattered from a thin foil should depend on the atomic weight of the foil material, on the angle of scattering and on the kinetic energy of the α-particles. GEIGER and MARSDEN[2] verified these predictions for a number of foils ranging in atomic weight from that of carbon to that of gold. Their experimental arrangement is shown in Figure 1. α-particles from a radioactive source (about 100 millicuries of radium emanation) were collimated by a slit such as to produce an approximately parallel beam of particles. Foils about 0·0001 cm thick were placed in the beam. The scattered particles were counted by visual observation of the scintillations produced by the particles as they hit a small screen of ZnS-powder. The ZnS-screen and the microscope could be rotated with respect to the foil and the source to allow measurements for different scattering angles Φ. The equipment was contained in an evacuated box.

The following discussion will deal with the scattering of α-particles from nuclei. These experiments may be regarded as an extension of the work of GEIGER and MARSDEN. The principle is the same, i.e., from the deflection which α-particles undergo one draws conclusions about the force which must have acted on the particle along its path. The term «nuclear scattering» refers to a situation where during part of its path the particle gets in contact with the nucleus. This requires that the particles have sufficiently high velocity to overcome the Coulomb-repulsion of the nuclear electric field. Over the past decade many experiments of this type have been performed. Basically, the experimental arrangement of Figure 1 is still being used, except that accelerators have replaced the radioactive sources and highspeed electronic circuits are used to count the number of scattered particles. The development of modern accelerators has made it possible to use intense, well-collimated beams of protons, deuterons, α-particles and heavier ions (lithium, carbon, oxygen, etc.). Ideally the accelerator is such that the energy of the particles is sharply defined and can be varied over a wide range.

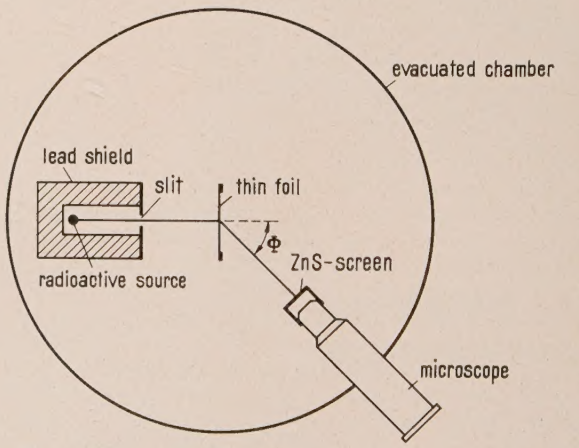


Fig. 1: Schematic diagram of the experimental arrangement used by GEIGER and MARSDEN to investigate the scattering of α-particles from thin foils

* University of Wisconsin.

[1] E. RUTHERFORD, Phil. Mag. *21*, 669 (1911).

[2] H. GEIGER and E. MARSDEN, Phil. Mag. *25*, 604 (1913).

Scattering experiments have been used to a large extent to investigate the force acting on a particle inside the nucleus. Perhaps the most important conclusion is that the problem is a complicated one. There is no simple force law which describes all experiments. Until now the most successful approach has been to group the experiments into certain classes and to try to invent for each class a semi-empirical theory which describes the results. In the following the scattering of α-particles from heavy nuclei and the scattering of α-particles from very light nuclei will be used as illustrations.

2. *Scattering of α-Particles from Heavy Nuclei*

To be specific in discussing the scattering of α-particles from heavy nuclei consider the case of scattering from gold. Figure 2 shows examples of trajectories which α-particles of 10 MeV energy[3] are expected to follow when they pass near a gold nucleus. The drawing is to scale. Note that on the scale of Figure 2 the next closet gold nucleus is very far away. The paths were computed on the assumption that the force between α-particle and nucleus follows Coulomb's law of electrostatic repulsion at each point along the trajectory ('Coulomb Scattering'). The computation of the trajectories is contained in the paper by RUTHERFORD quoted above. The figure shows that for large 'impact parameter' p the deflection Φ is small (trajectory 1). For smaller impact parameters the particle gets closer to the nucleus and is subject to a stronger electrostatic force which in turn causes a larger deflection (trajectories 2 and 3). Many particles are deflected by small angles, few by large angles because large impact parameters are more likely to occur than small ones. That large impact parameters are more likely than small ones simply expresses the commonly known fact that if one blindly shoots at a small object one is more likely to miss than to hit. RUTHERFORD treated the problem quantitatively and found that the scattering cross section[4] is proportional to $1/\sin^4(\Phi/2)$.

The dependence of the scattering on the energy of the incoming particles can be predicted in a similar way. Assume that only those particles are counted which are scattered through a given angle, for instance $\Phi = 60°$. Figure 3 shows trajectories for particles of different energy E. The impact parameter which is necessary for scattering through a fixed angle decreases with increasing particle-energy. Consequently the scattering cross section decreases with increasing energy. Calculation shows that the cross section is proportional to $1/E^2$.

For each trajectory one can define a 'distance of closest approach' d. With reference to Figure 3 the term is selfexplanatory. At a certain critical energy the distance of closest approach is equal to the sum $R_\alpha + R_{Au}$ of the radii of α-particle and gold nucleus. According to Figure 3 the critical energy is about 30 MeV. The value of course depends on the element being bombarded and on the angle of observation. Above the critical energy the particles will be affected by nuclear forces in addition to Coulomb forces.

Figure 4 shows the observed number of α-particles scattered by gold through $\Phi = 60°$ plotted as a function of the energy of incident α-particles between 13 and 36 MeV[5]. For low energies the points agree well with Coulomb scattering (solid line). The break at 27 MeV coincides closely with the critical energy. Above the critical energy the observed number of particles drops rapidly below that expected for Coulomb scattering. At 36 MeV the observed scattering is ten times smaller than the scattering one would expect if the nucleus were a point-charge.

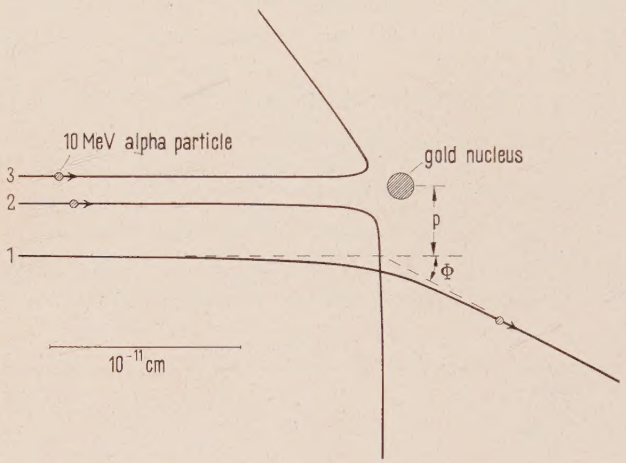


Fig. 2: Deflection of 10-MeV α-particles by the Coulomb field of the gold nucleus. For trajectory 1 the impact parameter p and the scattering angle Φ is indicated. The recoil of the gold nucleus is neglected, i.e., the nucleus is assumed to remain stationary

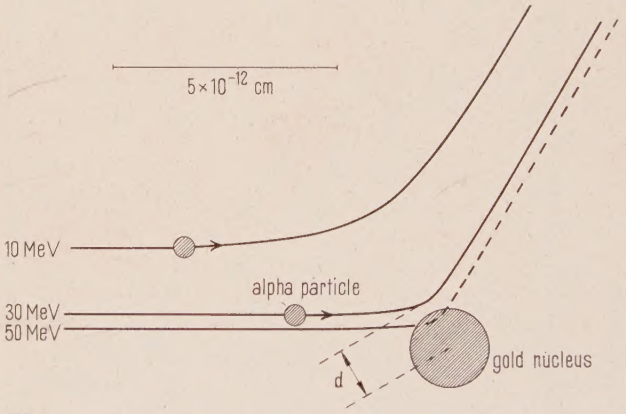


Fig. 3: α-particle trajectories of a fixed scattering angle $\Phi = 60°$. For each trajectory the energy of the α-particle is given. The distance of closest approach d is indicated for one trajectory only

[3] The kinetic energy $E = m v^2/2$ of particles is generally measured in MeV (million electron-volt). 1 MeV = $1{\cdot}6 \cdot 10^{-13}$ joule = $1{\cdot}6 \cdot 10^{-14}$ mkg*. The velocity of a 10 MeV α-particle is $2{\cdot}2 \cdot 10^7$ m/s.

[4] The term 'scattering cross section' is used for the number of scattered particles when foil thickness, detector size and number of incident α-particles are all normalized to unity.

[5] G. W. FARWELL and H. E. WEGNER, Phys. Rev. *93*, 356 (1954).

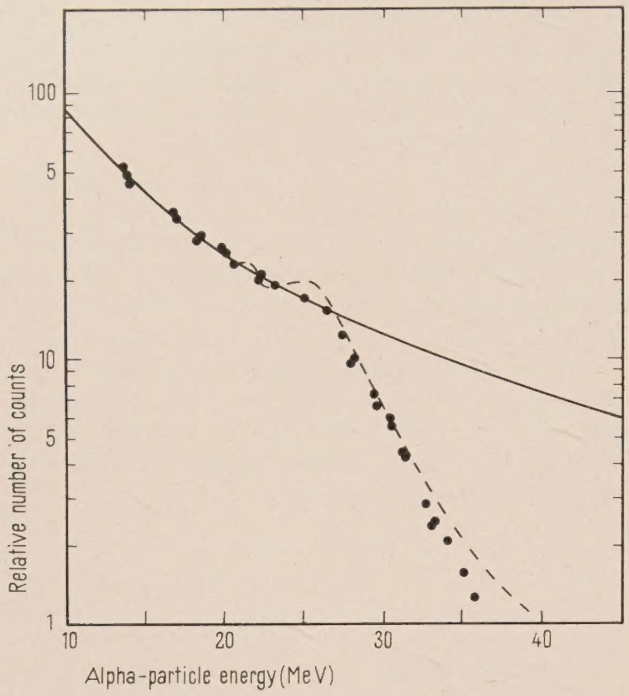


Fig. 4: The number of α-particles scattered by $\Phi = 60°$ from a gold foil is plotted as a function of the energy of the particles incident on the foil. The solid curve corresponds to Coulomb scattering from a point charge. The dotted curve was calculated assuming strong absorption of the α-particles by the nucleus. The measurements are by FARWELL and WEGNER[5], the calculations by BLAIR[6]

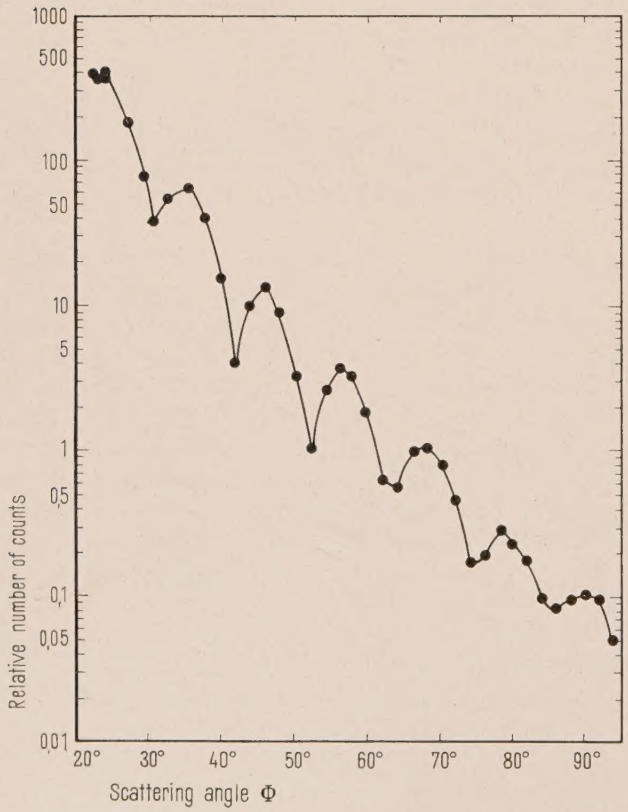


Fig. 5: The relative number of 40-MeV α-particles scattered from copper is plotted as a function of the scattering angle Φ. The measurements are by IGO *et al.*[7]. The solid line is a smooth curve drawn through the measured points

The rapid decrease of the number of scattered particles suggests that α-particles are absorbed by the nucleus. In the extreme case of the 'black nucleus model' the α-particle is assumed to be completely absorbed or broken up as soon as it gets in contact with the nucleus. If this assumption were correct one should presumably find that at the critical energy the number of scattered particles abruptly falls to zero. While this does not agree with observation, an important point was omitted in the preceding discussion. According to the theory of wave mechanics a particle of mass m moving with velocity v is to be considered a wave of wavelength $\lambda = h/mv$, where h is Planck's constant. From the study of optical phenomena it is known that geometrical optics fails when the object is small, i.e., comparable or smaller than the wavelength of light. Similarly the consideration of particle trajectories fails here, since a gold nucleus of about 9×10^{-13} cm radius is being 'looked at' with α-particles of wavelength 3×10^{-13} cm. Consequently one can understand that the drop at the critical energy is not sharp but instead smeared out over a certain energy range, much in the same way as shadows of small objects are unsharp. The dashed line of Figure 4 is the result of a calculation[6] which takes into account the wave-nature of the problem. The agreement with experiment is satisfactory. The radii of α-particle and gold nucleus which were assumed in the calculation ($R_\alpha + R_{Au} = 10 \cdot 6 \times 10^{-13}$ cm) agrees well with what is known about nuclear radii from other experiments.

Figure 5 shows how the number of scattered particles depends on scattering angle for 40 MeV α-particles scattered from copper[7]. The curve which the measured points follow is strongly reminiscent of a diffraction pattern. A quantitative comparison between these results and the 'black-nucleus model' requires the use of the mathematical methods of quantum mechanics. The calculation produces diffraction peaks at the correct angles, but their amplitude is in contradiction to the experiment. Good agreement is found, however, if the black nucleus model is modified in two ways: (i) the α-particle can travel some distance inside the nucleus before it gets absorbed, and (ii) the α-particle is subject to an attractive nuclear force when it is near the nuclear surface. The second condition causes the α-particle wavelength to become shorter as it penetrates the nuclear surface, while the first condition results in an attenuation of the wave inside nuclear matter. In the terminology of optics the α-particle wave encounters the nucleus as a ball of refractive and absorptive material. This nuclear model is frequently called the 'optical model' of the nucleus.

[6] J. S. BLAIR, Phys. Rev. *95*, 1218 (1954).

[7] G. IGO, H. E. WEGNER and R. M. EISBERG, Phys. Rev. *101*, 1508 (1956).

The optical model has been fruitful also in describing the scattering of neutrons, protons and deuterons from nuclei. To obtain reasonable agreement with experiment, the parameters (i.e., index of refraction and transparency) must be adjusted empirically. One finds that the parameters depend on the type of projectile and to a lesser degree on their energy. The optical model is presented here only in its simplest form. One modification which has been found to be necessary is to assume that the nuclear surface is somewhat diffuse, i.e., that the index of refraction changes continuously on the nuclear surface rather than in a stepwise fashion.

3. Scattering from Light Nuclei

If very light nuclei are bombarded with particle beams of 1 to 10 MeV energy, phenomena quite different from those described in the preceding section are observed. Instead of the smooth variation exhibited in Figure 4 the number of scattered particles shows large fluctuations, called 'resonance', as the bombarding energy is varied. The term 'resonance' probably is most commonly associated with acoustics, but the phenomenon accurs quite generally in systems which can undergo oscillations. A tuning fork placed in the vicinity of a source of sound oscillates strongly when the frequency of the source is identical – or very close – to the characteristic frequency of the fork. More precisely, if the amplitude of oscillation of the tuning fork is plotted as a function of the source-frequency, one finds a narrow peak – a 'resonance' – at the characteristic frequency and possibly additional smaller peaks at multiples of the characteristic frequency (higher harmonics). With devices other than a simple tuning fork, like a taut rubber membrane or a volume of air enclosed in walls, a large number of resonances may be observed. The resonances are not necessarily sharp. The larger the damping (friction) of the oscillating system the broader the resonance peaks.

The resonance behavior of scattering cross sections is demonstrated by Figure 6, which shows the number of α-particles scattered from carbon as a function of bombarding energy for five different scattering angles[8]. Among others there occurs a resonance at 4.3 MeV. Its half-width is about 0.04 MeV. It is apparent that the resonance is superimposed on a background. The background changes slowly with energy and is caused by the tails of other, broad resonances and by Coulomb scattering. The shapes of the resonances can be explained as being caused by interference between resonance- and background-scattering. The interference can be constructive or destructive depending on the phase-relation between resonance- and background-scattering. Typically a resonance observed at a fixed angle shows both constructive and destructive interference (see Figure 6; 4.3 MeV resonance at 90°, 140.8°, 147.9°) because as the energy is varied over the resonance the phase-shift between resonance- and background-scattering changes.

Other resonances are apparent at 5.8 and 7.0 MeV. To explain the measurements one must in addition assume a very broad resonance (1.6 MeV wide) at 6 MeV. The significance of these resonances is that each indicates a mode of oscillation or an 'excited state' of the nucleus O^{16}, which is the nucleus obtained by combining C^{12} with an α-particle. The energy of a particular mode of oscillation is found from the kinetic energy of the α-particle for which resonance occurs. The width ΔE of a resonance is associated with the lifetime τ of the excited state by $\Delta E \cdot \tau \sim h/2\pi$, where h is Planck's constant. The lifetime (i.e., the time during which the O^{16} nucleus exists in a given mode of oscillation before again breaking up into a C^{12} nucleus and an α-particle) is generally very short, being about 10^{-20} s for the resonance at 4.3 MeV.

Another quantity which may be deduced from the measurements is the angular momentum of the excited states of O^{16}. Classically, the angular momentum is given by the product of the momentum mv of the relative motion of α-particle and C^{12} nucleus times the impact parameter p. According to quantum mechanics, the angular momentum has to be a multiple of $h/2\pi$

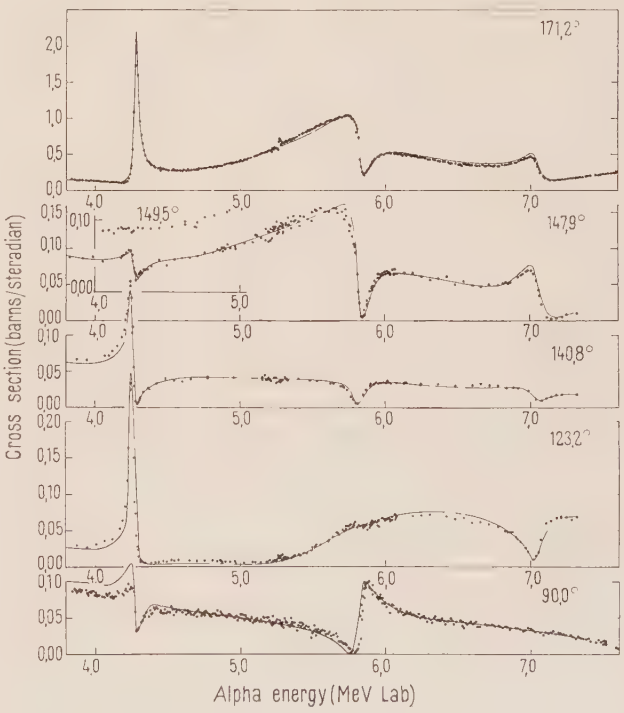


Fig. 6: The number of α-particles scattered from C^{12} is shown as a function of energy for five different scattering angles. The solid line represents calculated cross sections. The measurements are by Bittner and Moffat[8]

[8] J. W. Bittner and R. D. Moffat, Phys. Rev. *96*, 374 (1954).

where h is Planck's constant. Each resonance is characterized by one value of angular momentum. If the angular momentum is an odd multiple of $h/2\pi$, the application of quantum mechanics to the problem predicts that the resonance should be unobserved for a scattering angle of 90°. This is clearly the case for the resonance at 7.0 MeV. For each value of the angular momentum (except $J = 0$) there is a predictable scattering angle (or a set of angles) for which the resonance should not be observed. For instance the fact that the resonance at 4.3 MeV is not observed for a scattering angle of 149.5° labels it as a resonance of angular momentum $4 \cdot (h/2\pi)$. Once the angular momenta of the resonances are known, the resonance shapes and amplitudes at all other scattering angles is predictable. The solid line of Figure 6 shows that the predicted scattering agrees well with the measurements.

From experiments of this type one now has a large amount of information on the position, the lifetime and the angular momentum of excited states of nuclear. There remains the problem of explaining why the excited states of nuclei occur where they do. The treatment of this problem has met so far only with very limited success.

Zusammenfassung

Nach einem Überblick über die RUTHERFORDsche Theorie der Ablenkung von α-Teilchen im elektrostatischen Feld des Atomkernes wird auf kürzliche Streuexperimente hingewiesen. Die Streuung von α-Teilchen an schweren Kernen ist einem optischen Beugungsphänomen ähnlich. Resonanzen wie sie in der Streuung an leichten Kernen beobachtet werden, sind akustischen Resonanzen vergleichbar.

Hochenergiephysik

Von P. PREISWERK*

Einleitung

Kurz vor der letzten Jahrhundertwende wurde das erste Elementarteilchen, das Elektron entdeckt. Heute ist die Zahl der bekannten und vermuteten Elementarteilchen auf 32 angestiegen. Wesentlich für deren Entdeckung war die Entwicklung der Experimentiertechnik, die Instrumente geschaffen hat, die gestatten Elementarprozesse, Zusammenstösse zwischen Elementarteilchen und Zerfallsprozesse einzeln zu registrieren, zu beobachten und im Experiment zu untersuchen. Neben dem Auffinden dieser Teilchen selbst ist die Beobachtung, dass im Stoss zweier Teilchen neue entstehen können, dass die Elementarteilchen selbst umwandelbar sind, eine der fundamentalen Entdeckungen unseres Jahrhunderts.

Die Schwelle der Erzeugung von Teilchen ist durch die Ruhmasse der Teilchen bestimmt. Viele dieser Teilchen und Prozesse treten deshalb erst in Erscheinung, wenn die Stossenergie sehr hoch ist; auf hohe Stossenergien sind die Physiker bei der Untersuchung der kosmischen Strahlung gestossen.

Kosmische Strahlung

So kann man den Beginn der Geschichte der Hochenergiephysik willkürlich mit der Entdeckung der kosmischen Strahlung, die vor einem halben Jahrhundert gemacht worden war, gleichsetzen. VICTOR HESS schloss aus Beobachtungen der Ionen in der Luft, in verschiedenen Höhen über dem Erdboden, dass aus dem Weltraum eine ionisierende Strahlung in die Erdatmosphäre eindringe. Es dauerte Jahre ehe die Natur dieser Primärstrahlung, die wie wir heute wissen, vorwiegend aus energiereichen Protonen besteht, eindeutig erkannt worden war, da sie sich als von der komplexen, in der Atmosphäre erzeugten Sekundärstrahlung verdeckt erwies.

In dieser Sekundärstrahlung wurde erstmals das Positron beobachtet, ebenso die Mesonen – die leichten Muonen, die geladenen Pionen, die schweren K-Mesonen – und fast alle heute bekannten Hyperonen. Beobachtet wurden Entstehungs- und Zerfallsprozesse. Das Positron und der Materieerzeugungsprozess des Elektron-Positron-Paares war in der relativistischen Quantumtheorie DIRACS enthalten. Die Mesonen hatte YOUKAWA – vor ihrer Entdeckung – als die schweren Quanten des Kernfeldes zur Deutung der Kernkräfte erfunden. Die ersten entdeckten Mesonen, die Muonen, hatten allerdings keineswegs die von YOUKAWA erwarteten Eigenschaften; sie sind dem Elektron viel ähnlicher. K-Mesonen und Hyperonen zeigten Eigenschaften die zu der Bezeichnung «fremdartiger Teilchen» führte, einem Namen, der ihnen auch heute noch anhaftet. In einer ersten Periode der neuen Forschungsrichtung, der «heroischen», stiegen die Physiker mit ihren Messapparaten auf hohe Berge um «näher an die Primärstrahlung zu kommen», sie begaben sich in Tunnels, um die Absorption durchdringender Komponenten zu studieren, fuhren auf Schiffen, um die geographische Intensitätsverteilung zu registrieren und führten Dauermessungen, um Korrelationen mit der Sonnen- und Sternzeit festzustellen, die Herkunft der Strahlen zu eruieren.

* CERN, Genf

Eine zweite Periode begann als es im Jahre 1948 in Berkeley erstmals gelang mit dem Synchrotron (380 MeV α-Strahlen) künstliche Mesonen zu erzeugen. Seither hat sich die Forschung in diesem Gebiet in zwei Richtungen spezialisiert; die eine zielt weiterhin auf die Erforschung der kosmischen Strahlung, die andere betreibt Hochenergiephysik mit Hilfe der Beschleuniger.

Die Untersuchungen der ersten Richtung konzentrieren sich einerseits immer mehr auf die Prozesse, die von Partikeln mit Energien, die die Beschleuniger nicht erreichen, hervorgerufen werden und andererseits auf die Primärstrahlung als Naturphänomen um unter anderem mehr über ihren Entstehungsmechanismus und den Entstehungsort zu erfahren. Vermutet wird, dass die Teilchen statistisch in inhomogenen magnetischen Wolken, die sich nach Sternexplosion aufbauen, beschleunigt werden.

Die zweite Richtung kann die neuen Teilchen und ihre Prozesse dank der grossen Strahlungsintensitäten und der grösseren Bewegungsfreiheit, die Laboratorien bieten, mit grösserer Genauigkeit in quantitativer Weise studieren.

Doch auch die erste Richtung treibt dem steten Ziel besserer Beobachtungsmethoden zu: es werden Laboratoriumsinstrumente in den Raum ausserhalb der absorbierenden Atmosphäre, auch ausserhalb des magnetischen Feldes der Erde, in den freien Raum geschickt. In der zukünftigen Geschichte der Erforschung der kosmischen Strahlung wird wohl wieder eine heroische Periode eintreten, wenn bemannte Beobachtungs-Aussenstationen errichtet werden.

Teilchenbeschleuniger

Je höher die Geschwindigkeit eines Teilchenstromes, desto kürzer ist die zugeordnete Wellenlänge und in um so kleinere räumliche Dimensionen kann mit «Teilchenmikroskopen» hineingesehen werden. Ladungen und Materie finden sich in den Elementarteilchen in kleinen Volumina konzentriert. Diese Konzentration von Materie in kleinen Bezirken setzt das Vorhandensein starker Kräfte voraus. Die ersten Geschosse der Kernphysik waren die α-Teilchen radioaktiver Substanzen. Sie haben eine Energie von einigen Millionen Elektronenvolt. Mit ihnen hat RUTHERFORD Atome abgetastet, dabei den Atomkern entdeckt und später die erste künstliche Kernumwandlung vollzogen. In den Höhenstrahlen wurden Primärteilchen bis zu einigen 10^{18} eV ermittelt. Diese enorme Energiekonzentration vergegenwärtigt man sich besser, wenn die Energie in mkg ausgedrückt wird (10^{19} eV entspricht 0,1 mkg) und wenn man bedenkt, dass diese Energie auf ein Teilchen, das eine Masse von 10^{-27} kg hat, konzentriert ist.

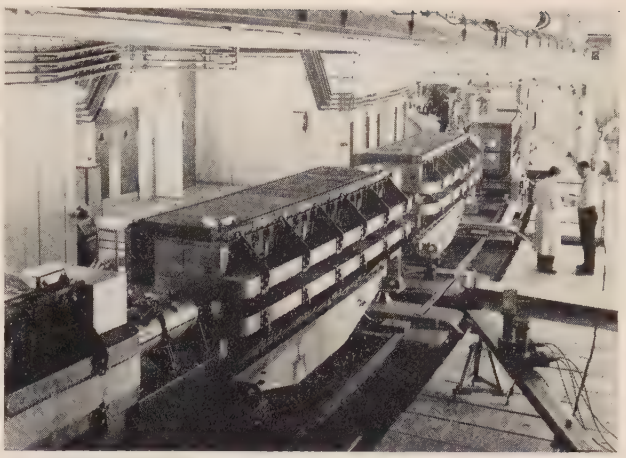


Abb. 1: Ringtunnel des 25 GeV CERN Proton-Synchrotrons mit Einheiten des Magneten

Mit Beschleunigern hat man Energien über 10 GeV (10^{10} Elektronenvolt) erreicht. Der gegenwärtige „Weltrekord" liegt bei 28 GeV.

Die α-Teilchen radioaktiver Substanzen unterliegen ausserhalb des Kernes auf kurzer Strecke der Abstossung der Coulombkräfte der Kernladungen. Die kosmischen Strahlen scheinen in schwachen Feldern grosser räumlicher Ausdehnung ihre enorme Energie zu gewinnen. Die in Beschleunigern verwendeten und erreichten Feldstärken liegen zwischen diesen beiden Extremen. Schon früh hat COOLIDGE mit Röntgenröhren die Erfahrung gemacht, dass für einstufige Beschleunigungsstrecken eine praktische Grenze, bedingt durch die Oberflächen-Isolationsfähigkeit der Röhre, von rund 400000 Elektronenvolt besteht. Technische Schwierigkeiten setzen auch mehrstufigen Beschleunigern mit elektrostatischem Feld bei einigen Millionenvolt eine Grenze. Die hohen Beschleunigungen werden mittels elektrischen Wechselfeldern erzielt. In den Betatrons wird die Induktionswirkung von veränderlichem magnetischem Flux ausgenützt. In den Resonanzbeschleunigern durchlaufen die Teilchen mehrmals Sektoren in Phase mit dem elektrischen Wechselfeld, so dass sie immer wieder eine Beschleunigung erfahren.

An Resonanzbeschleunigern sind entwickelt worden: die Linearbeschleuniger mit in Hohlleitern erregten elektrischen Wechselfeldern, die Cyclotrons mit einem konstanten magnetischen Führungsfeld, in dem die Teilchen auf einer Spiralbahn immer wieder zum selben Beschleunigungsspalt gelangen, die Synchrotrons mit zeitlich veränderlichem Magnetfeld, in dem die Teilchen auf konstantem Radius geführt werden, in Phase mit den Beschleunigungsfeldern.

Mehrere Beschleuniger, die Teilchen über 1 GeV (10^9 eV) liefern, sind in Betrieb und weitere projektiert oder im Bau. So steht seit 1952 das 3 GeV Cosmotron in Brookhaven in Betrieb, seit 1954 das 6 GeV Beva-

tron in Berkeley, seit 1957 das 10 GeV Synchrophasotron in Dubna, seit 1958 der 3 GeV «Saturn» in Sacley bei Paris und seit Ende 1959 das 25 GeV CERN Protonsynchrotron. In Brookhaven geht ein 30 GeV Synchrotron der Vollendung entgegen und das Forschungsinstitut für elektrophysikalische Ausrüstung in Leningrad baut ein 50 GeV Synchrotron (Synchrophasotron) mit einem Radius von 167 m. In Stanford ist ein Elektron-Linearbeschleuniger geplant, der in einer ersten Etappe 20 GeV, in einer zweiten 40 GeV geben soll. Der Beschleunigungstank soll eine Länge von 3,3 km aufweisen.

Bis jetzt sind die Anstrengungen, die der Übergang zu Energien höherer Grössenordnung verlangte, durch das Auffinden qualitativ neuer physikalischer Phänomene belohnt worden. Wir erwähnten das Cyclotron, womit die ersten künstlichen Mesonen erzeugt wurden und auch die Entdeckung des neutralen Pions gemacht wurde. Das Cosmotron in Brookhaven brachte die künstliche Erzeugung von K-Mesonen und von Hyperonen und fundamentale Aufschlüsse über deren Produktion und Zerfall. Mit dem Bevatron wurde das erste Hauptziel, die Erzeugung von Antinukleonen, auf das hin es gebaut wurde, erreicht, ferner wurde ein neues Hyperon gefunden. Mit den höheren Energien kann man zumindest die Erzeugung weiterer Antihyperonen erwarten.

Der Übergang von 10 GeV Beschleunigern zu solchen von 30 GeV ist technisch sinnvoll ermöglicht worden durch die Anwendung von Magnetfeldern mit alternierendem Gradienten. Mit diesem Prinzip lässt sich eine starke Fokussierung der Strahlen mit kleinen Schwingungsamplituden erreichen, so dass man mit wesentlich kleineren Strahlkammern und damit auch leichteren Magneten auskommt. So wiegt der Magnet des 25 GeV CERN Synchrotron mit alternierendem Gradienten 3300 t, während der Magnet des russischen 10 GeV Synchrotrons 35000 t schwer ist.

Der Erzeugung höherer Energien durch Extrapolation der heutigen Beschleuniger ist noch keine prinzipielle Grenze gesetzt. Bei jedem weiteren Schritt erhebt sich jedoch die Frage, ob dieser Schritt auch sinnvoll wäre. Neben dem enormen Aufwand, den eine Vergrösserung der Dimensionen brauchte, mag man aus anderen Gründen zögern. Die für eine Reaktion massgebende, im Schwerpunktsystem der kollidierenden Teilchen verfügbare Energie wächst nur langsam mit der Teilchenenergie mit der Quadratwurzel der Energie (relativistischen Transformation) an. Ausserdem sind die Teilchen mit höherer Energie im Laboratoriumsystem immer schwieriger zu identifizieren. Vielleicht treten keine neuen Elementarprozesse auf, sondern nur Prozesse mit komplexerer Multiplizität. Um darauf antworten zu können, wird man vielleicht abwarten müssen, bis Ergebnisse von Versuchen mit Beschleunigern vorliegen, bei denen zwei entgegengerichtete Strahlen kollidieren. Ein solcher Beschleuniger entspräche, wenn jeder der beiden Strahlen 25 GeV Protonen lieferte, einem Beschleuniger mit einem Teilchenstrahl von 12000 GeV der auf eine ruhende Treffplatte fiele.

Man überlegt sich auch, ob tiefgekühlte Spulen zur Erzeugung von grösseren magnetischen Führungsfeldern als sie mit Eisen erreichbar sind, angewandt werden können. Die Apparatdimensionen würden verkleinert. Ferner wird untersucht, ob die Plasmaerscheinungen für Hochenergiebeschleuniger neue Möglichkeiten bieten.

Nachweisinstrumente

Die klassischen Instrumente, deren sich die Höhenstrahlforschung bediente, finden auch mit den Beschleunigern immer noch Anwendung. Als wichtigste Entwicklung der visuellen Technik, die die Teilchenspuren über die Ionisationspuren sichtbar macht, ist neben die Wilsonkammer und die photographischen Platten, die Blasenkammer getreten. In einer überhitzten Flüssigkeit bilden sich Dampfblasen an den von einem durchgegangenen Teilchen erzeugten Ionen. Eine mit Flüssigkeit gefüllte Kammer hat gegenüber einer gasgefüllten Wilsonkammer den Vorteil, dass die Flüssigkeit wegen ihrer grossen Dichte selbst als Treffplatte benützt werden kann und dass gleichzeitig die erzeugten Sekundarteilchen mit grosser Wahrscheinlichkeit innerhalb der Kammer ihrerseits zu Reaktionen kommen können. Mit flüssigem Wasserstoff gefüllte Kammern enthalten keine komplexen Kerne, ein Vorteil der die Interpretation der beobachteten Spuren erleichtert. Aufnahmen lassen sich in rascher Aufeinanderfolge machen.

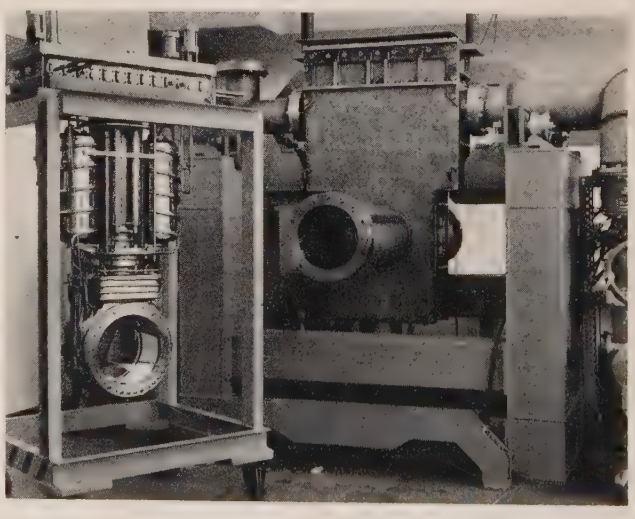


Abb. 2: Wasserstoff-Blasenkammer (30 cm CERN-Kammer)

Abb. 3: Beispiel einer Wasserstoff-Blasenkammer-Aufnahme: Spuren von 330 MeV-Pionen
In *a* findet die Reaktion $\pi^+ + p^+ \rightarrow n^0 + \pi^+ + \pi^+$ statt (Spuren der beiden geladenen π^+ sichtbar) in *b* zerfällt eines der π^+ in $\mu^+ + \nu$ (Spuren des μ^+ sichtbar) in *c* zerfällt das Muon in $e^+ + \nu + \bar{\nu}$ (Spur des Positrons sichtbar). Die Kammer war in einem magnetischen Feld, die Teilchenspuren sind daher gekrümmt (Photo CERN)

Die Zählertechnik ist schon lange mit dem Scintillationszähler wesentlich erweitert worden. Die hohen Intensitäten der Strahlen, die im allgemeinen in kurzen Impulsen zusammengedrängt sind, stellen hohe Forderungen an das Auflösungsvermögen der Zähler und der Zählelektronik. Neuerdings sucht man Scintillationskammern zu entwickeln, für die das räumliche Auflösungsvermögen so gross ist, dass Teilchenspuren registriert werden können und dieses Charakteristikum mit der Zeitauflösung von Teilchenzählern verbunden wird.

Neben den Scintillationszählern hat der Cerenkov-Zähler grosse Bedeutung erlangt. Er registriert das Licht, das ein Teilchen in einem Medium als Bugwelle aussendet. Der Brechungsindex muss derart sein, dass die Teilchengeschwindigkeit grösser ist als die Lichtgeschwindigkeit im Medium. Die Trennung oder Unterscheidung der Teilchen bei relativistischer Geschwindigkeit ist eine äusserst schwierige, für quantitative Messungen aber unerlässliche Aufgabe. Eine Trennung nach Impuls und nach Geschwindigkeit hat zu erfolgen.

Die Schwierigkeiten, die man antrifft, kann man sich am folgenden Fall vergegenwärtigen. Wollte man in einem durch ein Magnetfeld nach Impuls getrennten Strahl von Teilchen des Impulses von 25 GeV/c Pionen von Protonen durch ihre Flugzeit unterscheiden, müsste für eine Flugstrecke von 1 km eine Flugzeitdifferenz von 2 Nanosekunden ($2 \cdot 10^{-9}$ s) festgestellt werden.

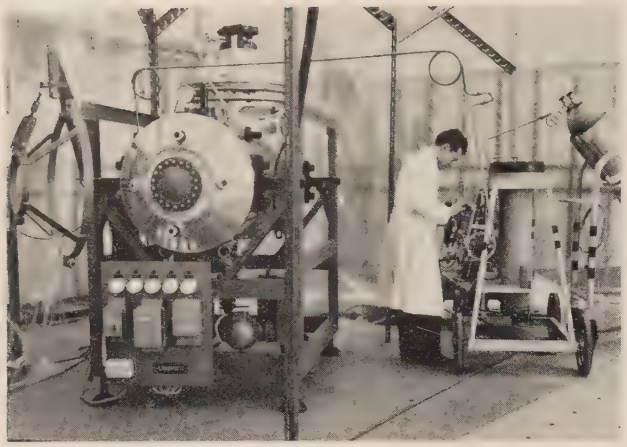


Abb. 4: Gas-Cerenkov-Zähler (CERN)

Abb. 5: Auswertegerät für Teilchenspuren (Verziffernder Projektionsapparat CERN)

Die Geschwindigkeit von 25 GeV/c Protonen weicht nur um rund $^{6}/_{10}\,^{0}/_{00}$ von der Lichtgeschwindigkeit ab.

Mit einem mit Gas (C_2H_4) gefüllten Cerenkov-Zähler lassen sich im Impulsbereich von mehreren GeV/c Teilchen verschiedener Geschwindigkeit aussieben. Man registriert Licht, das nur unter einem wohldefinierten Winkel emittiert wird. Durch Variieren des Gasdruckes und dadurch auch des Brechungsindexes können mit demselben Zähler verschiedene Teilchengeschwindigkeiten ausgesucht werden.

Mit Blasenkammeraufnahmen oder mit Registrierungen komplizierter Zähleranordnungen wird in kurzer Zeit eine grosse Zahl von Informationen angesammelt. Ihre Auswertung wird in steigendem Masse automatisiert. Es sind Geräte zur automatischen Ausmessung von Spuren entwickelt worden, und von den Rechenmaschinen werden Auswerteprogramme durchgeführt.

Organisation der Forschung

Die physikalische Forschung stand an der Wiege der Industrialisierung, heute haben Praktiken der Industrie in die physikalische Forschung Eingang gefunden. Viele Experimente werden von Physikern und Ingenieuren gemeinsam durchgeführt. Der Bau der grossen Beschleuniger, der komplizierten und kostspieligen Messinstrumente, die Durchführung von Experimenten und deren Auswertung übersteigt im allgemeinen die Fähigkeit und den Rahmen der Universität, der Zelle der Forschung von ehemals. In einzelnen Grossstaaten konnten sich einige Institute wie das Radiation Laboratory in Berkeley an eine solche Aufgabe wagen. In Brookhaven beteiligen sich mehrere Universitäten. CERN ist das erste Beispiel eines internationalen Forschungsinstitutes. Für die Universitäten stellt sich heute die Frage, wie weit neben der Schulung auch noch Forschung betrieben werden kann. Für die Forschungsinstitute stellt sich die Aufgabe, in der Spezialistenansammlung eine universelle physikalische Schulung ständig zu erneuern.

Elementarteilchen

In der Tabelle sind, nach der Ruhmasse geordnet, die heute bekannten Elementarteilchen aufgeführt: das Photon, die Leptonen, die Mesonen, die Baryonen (Nukleonen und Hyperonen). Die Bezeichnung Elementarteilchen bringt zum Ausdruck, dass bei der Analyse der Naturprozesse die sogenannten Teilchen nicht einfach aus übrigen aufgebaut erscheinen und beschrieben werden können.

Die Kräfte in der Natur können als Nahewirkung zwischen Teilchen beschrieben werden, wobei die gegenseitige Wechselwirkung zweier Systeme vom Austausch von Zwischenteilchen herrührt, die ihrerseits in Kontakt-Wechselwirkung mit den beiden Systemen stehen.

Die stärksten in der Natur beobachteten Wechselwirkungen sind die von Pionen und K-Mesonen mit den Baryonen. Ihr Austausch gibt Anlass zu den starken Kernkräften, die die Nukleonen im Kern zusammenhalten. Der Austausch findet nur über kurze Strekken statt, die Reichweite der Kernkräfte ist klein.

Von mittlerer Stärke sind die Wechselwirkungen zwischen Photonen und geladenen Teilchen, es sind die elektromagnetischen Wechselwirkungen, die die Atome und Moleküle zusammenhalten und Anlass zu den optischen Erscheinungen geben.

	Name	Symbol	Ruhmasse in c^2/MeV	Mittlere Lebensdauer in sec	Zerfallsprodukte	Ladungszahl Q	Baryonenzahl B	Spin J	Isotopen-Spin T	Isotopen-Spin T_z	Fremdheit S	Antiteilchen	Q	B	T_z	S
	Photon	γ	0	∞	stabil	0	0	1								
Leptonen	Neutrino	ν	0	∞	stabil	0	0	$^1/_2$				$\bar{\nu}$	0	0		
Leptonen	Elektron	e^-	0,51	∞	stabil	-1	0	$^1/_2$				e^+	$+1$	0		
Leptonen	Muon	μ^-	106	$2 \cdot 10^{-6}$	$e^- + \nu + \bar{\nu}$	-1	0	$^1/_2$				μ^+	$+1$	0		
Mesonen	Pion	π^0	135	$< 4 \cdot 10^{-16}$	$\gamma + \gamma$	0	0	0	1	0	0	π^0	0	0	0	0
Mesonen	Pion	π^+	140	$2{,}6 \cdot 10^{-8}$	$\mu^+ + \nu$; $e^+ + \nu$	$+1$	0	0	1	$+1$	0	π^-	-1	0	-1	0
Mesonen	Pion	π^-	140	$2{,}6 \cdot 10^{-8}$	$\mu^- + \nu$; $e^- + \nu$	-1	0	0	1	-1	0	π^+	$+1$	0	$+1$	0
Mesonen	K-Meson	K^+	494	$1{,}2 \cdot 10^{-8}$	$\mu^+ + \nu$, 2π, 3π; $e^+ + \pi^0 + \nu$; $\mu^+ + \pi^0 + \nu$	$+1$	0	0	$^1/_2$	$+^1/_2$	1	K^-	-1	0	$-^1/_2$	-1
Mesonen		K^0	498	$1{,}0 \cdot 10^{-10}$ / $0{,}9 \cdot 10^{-7}$	$\pi^+ + \pi^-$, $\pi^0 + \pi^0$; $\mu + \pi + \nu$, $e + \pi + \nu$	0	0	0	$^1/_2$	$-^1/_2$	1	$\bar{K}_0$	0	0	$+^1/_2$	-1
Baryonen, Nukleonen	Proton	p^+	938	∞ ($> 10^{28}$)	stabil	$+1$	1	$^1/_2$	$^1/_2$	$+^1/_2$	0	$\bar{p}^-$	-1	-1	$-^1/_2$	0
Baryonen, Nukleonen	Neutron	n^0	940	$1{,}0 \cdot 10^3$	$p^+ + e^- + \nu$	0	1	$^1/_2$	$^1/_2$	$-^1/_2$	0	$\bar{n}^0$	0	-1	$+^1/_2$	0
Baryonen, Hyperonen		Λ^0	1115	$2{,}5 \cdot 10^{-10}$	$p^+ + \pi^-$; $n^0 + \pi^0$	0	1	$^1/_2$	0	0	-1	$\bar{\Lambda}^0$	0	-1	0	$+1$
Baryonen, Hyperonen		Σ^+	1190	$0{,}8 \cdot 10^{-10}$	$p^+ + \pi^0$; $n^0 + \pi^+$	$+1$	1	$^1/_2$	1	$+1$	-1	$(\bar{\Sigma}^-)$	-1	-1	-1	$+1$
Baryonen, Hyperonen		Σ^0	1192	$< 10^{-11}$	$\Lambda^0 + \gamma$	0	1	($^1/_2$)	1	0	-1	$(\bar{\Sigma}^0)$	0	-1	0	$+1$
Baryonen, Hyperonen		Σ^-	1196	$1{,}6 \cdot 10^{-10}$	$p^0 + \pi^-$	-1	1	$^1/_2$	1	-1	-1	$(\bar{\Sigma}^+)$	$+1$	-1	$+1$	$+1$
Baryonen, Hyperonen		Ξ^0	1311	?	$\Lambda^0 + \pi^0$	0	1	($^1/_2$)	$^1/_2$	$+^1/_2$	-2	$\bar{\Xi}^0$	0	-1	$-^1/_2$	$+2$
Baryonen, Hyperonen		Ξ^-	1319	$1{,}9 \cdot 10^{-10}$	$\Lambda^0 + \pi^-$	-1	1	$^1/_2$	$^1/_2$	$-^1/_2$	-2	(Ξ^+)	$+1$	-1	$+^1/_2$	$+2$

Schwach sind die Wechselwirkungen, bei denen ein Neutrino emittiert oder absorbiert wird. Sie sind verantwortlich für den β-Zerfall des Neutrons und die meisten spontanen Umwandlungen der anderen Elementarteilchen.

Die schwächsten Wechselwirkungen sind die der Gravitation, die nur zwischen grossen Massen in Erscheinung treten. Vielleicht existiert auch für sie ein Teilchen, das die Kräfte übermittelt.

Von den drei ersten, in der Natur realisierten Klassen, ist die der elektromagnetischen Wechselwirkungen am längsten und besten bekannt. Die Aussagen die die Quantenelektrodynamik, die quantentheoretische Erweiterung der Maxwell'schen Elektrodynamik, liefert, sind bis jetzt auch in Einzelheiten in exakter Übereinstimmung mit den experimentellen Ergebnissen befunden worden. Aber es ist eine wesentliche Frage, wieweit die Theorie, die mit Punktladung operiert auch bei den sehr kleinen Dimensionen (10^{-14} cm), zu denen die hochenergetischen Teilchen Zugang geben, noch anwendbar ist.

Die beiden anderen Klassen sind noch wesentlich weniger bekannt. Ihre Beschreibung mit Hilfe der quantentheoretischen Feldtheorie, des einzigen bisher zur Verfügung stehenden theoretischen Apparates, hat sich bei der Fermischen Theorie des β-Zerfalls und bei der späteren Anwendung auf andere schwache Prozesse sehr bewährt. Sie gibt auch in der Erweiterung von YOUKAWA wenigstens eine qualitative Beschreibung des Pion-Nukleonsystems.

Ein grosser Fortschritt wurde erreicht als es glückte, phänomenologisch die Nukleonen und Hyperonen in ein Schema (Gell-Mann, Nishijima) – dessen tiefere Bedeutung allerdings noch nicht erkannt ist – einzuordnen, den Teilchen Quantenzahlen zuzuordnen und deren Auswahlregeln bei Reaktionen zu formulieren.

Kurz nach der Entdeckung des Neutrons ist der Begriff des Isotopen Spin T, dessen Formalismus dem des gewöhnlichen Spin J ähnlich ist, eingeführt worden. Er charakterisiert die beiden Nukleonen, die ähnlichen Teilchen Proton und Neutron, als verschiedene Ladungszustände derselben Einheit.

Die Zahl der Ladungszustände ist gegeben durch $2T + 1$. Das Nukleon hat zwei Komponenten, T ist $1/2$ mit $T_z = +1/2$ für das Proton, $T_z = -1/2$ für das Neutron. Die Pionen haben 3 Ladungszustände: $T = 1$ ist ihnen daher zugeordnet worden mit $T_z = +1(\pi^+)$, $T_z = 0(\pi^0)$, $T_z = -1(\pi^-)$.

Die Deutung der Reaktionen, an denen K-Mesonen und Hyperonen beteiligt sind, führte zur Entdeckung einer neuen Quantenzahl der «Fremdheitsquantenzahl» S und zu der in der Tabelle angegebenen Zuordnung.

In starken Wechselwirkungen bleibt die neue Quantenzahl erhalten ($\Delta S = 0$), aber nicht bei den schwachen Wechselwirkungen, die verantwortlich für den Zerfall sind ($\Delta S = 1$). Diese Zuordnung und Regel erklärt unter anderem warum die Reaktion $N + N = N + \Lambda + K$ stattfindet, aber die Reaktion $N + N = \Lambda + N$ nicht beobachtet wird. Im ersten Fall gilt $\Delta S = 0$, im zweiten wäre $\Delta S = -1$.

Fremdheitsquantenzahl S, Isotopen Spin T und die Baryonenzahl B (1 für Baryonen, 0 für alle anderen Teilchen) sind mit der Ladungszahl Q durch die Relation

$$Q = T_z + (B + S)/2$$

verbunden.

Das Schema liess noch ein Teilchen erwarten ($T_z = 1/2$, $S = -2$, $B = 1$). Es ist letztes Jahr entdeckt worden. Das Schema hat sich bisher in vollem Einklang mit den experimentellen Befunden gezeigt.

Die Erhaltung der Fremdheitsquantenzahl gilt nur für gewisse Klassen von Wechselwirkungen. Das ist auch der Fall für die Parität. Es erregte Aufsehen als vor einigen Jahren entdeckt wurde, dass die Parität bei den schwachen Wechselwirkungen nicht erhalten bleibt, dass keine links-rechts Symmetrie bei ihnen besteht.

Es ist eine allgemeine Eigenschaft der heutigen Feldtheorie, dass sie jedem Teilchen ein Antiteilchen zuordnet, das entgegengesetzte Ladung, gleiche Masse und gleichen Spin hat. Das magnetische Moment ist bei Teilchen und Antiteilchen entgegengesetzt errichtet, relativ zur Spinrichtung. Falls das Teilchen unstabil ist, hat das Antiteilchen dieselbe Zerfallskonstante. Die Tabelle zeigt, dass fast alle Antiteilchen gefunden wurden. Das π^0 ohne Ladung und mit Spin 0 ist sein eigenes Antiteilchen.

Im Paarerzeugungsprozess bei dem ein Elektron und sein Antiteilchen, das Positron, entsteht, zeigt sich, dass der Erhaltungssatz der Ladung wirksam ist. Die Ladungszahl Q definiert als die Zahl der positiven Ladungen vermindert um die Zahl der negativen ($Q = q^+ - q^-$) bleibt in einem isolierten System konstant. Dieser Satz scheint absolut zu gelten. Ebenso absolut scheint die Erhaltung der Baryonenzahl $B = N - \bar{N}$ zu gelten ($B = 0$ für Leptonen und Mesonen, $B = 1$ für Baryonen, N = Zahl der Baryonen, $\bar{N}$ = Zahl der Antibaryonen).

Zusammengesetzte Gebilde

Unter den Elementarteilchen sind nur das Elektron, Proton und das Photon und das Neutrino in freiem isolierten Zustand stabil. Das freie Neutron ist instabil, hat aber eine relativ lange Lebensdauer und im Kernverband eine gleiche Stabilität wie das Proton. Proton, Neutron und Elektron sind die Bausteine der Atome und Moleküle.

Auch mit instabilen Teilchen hat man zusammengesetzte Gebilde gefunden. Die stabilisierenden Bindungskräfte sind aber nicht ausreichend, die Lebensdauer des gebundenen Zustands wesentlich über die des freien instabilen Teilchens zu verlängern.

Schon lange ist das Positronium ein «Positron-Elektron Atom» bekannt, Muonen und Pionen können als Hüllenteilchen von Atomkernen gebunden werden und kurzzeitig bilden sich Mesonenatome. Im normalen Kern kann ein Nukleon durch ein Hyperon ersetzt werden unter Bildung eines Hyperkernes. Interessant ist das Beispiel des Hyperwasserstoffs, der aus 1 Proton, 2 Neutronen und 1 Λ^0 besteht. Das gewöhnliche H_1^4 Isotop aus 1 Proton und 3 Neutronen existiert nicht, weil das dritte Neutron wegen des Pauli-Ausschliessungsprinzips keinen tiefen Zustand besetzen kann. Für das Λ^0 neben 2 Neutronen besteht dieses Verbot nicht.

In den ersten Dezennien unseres Jahrhunderts schien die Analyse der Struktur der Materie eine Grenze erreicht zu haben, indem die komplexen Naturphänomene auf die Bewegungen und Änderungen der Anordnungen weniger gegebener Einheiten zurückgeführt waren. Mit der Entdeckung neuer Elementarteilchen und neuer Prozesse ist das Bild wieder verwirrter geworden, die Natur erwies sich als noch vielfältiger.

Gibt es neben den nun bekannten Elementarteilchen neue Kategorien, die vielleicht erst bei Stössen noch höherer Energie in Erscheinung treten? Sind die Gesetze der Erhaltung der Ladung, der Erhaltung der Baryonenzahl, der Erhaltung der Energie, des Impulses und der Erhaltung des Spins, die Gesetze, die alle bei starken, mittelstarken und schwachen Wechselwirkungen gelten, universell gültig oder gibt es schwächere Wechselwirkungen bei denen sie verletzt werden?

Spannende Fragen, die Hoffnung in der Vielfältigkeit der Elementarteilchen auf eine tiefere Symmetrie zu stossen, die Aussicht die gesamten Naturphänomene dann besser zu verstehen, spornen die Physiker bei ihrer Forschung weiterhin an.

Summary

Short Review of the actual state of High Energy Physics: Cosmic ray research – Accelerators for high energy particles – Instruments for detection of fast particles – Classification of elementary particles.

The Particle Concept and Solid State Physics

By G. H. WANNIER*

The early decades of this century have witnessed the rise of a new concept in physics, the elementary particle. Elementary particles and their properties are today quite naturally assumed the basis of all physical understanding, in the sense that all properties of matter are thought, at least in principle, reducible to them. This picture of the science of physics did not always exist. As late as 1880 many physical properties were not thought of as reducible to such simple concepts. This was particularly true in the physics of solids. Many properties of solids were measured in those days: electrical and thermal conductivity, elastic constants, index of refrection, etc.; yet reduction of these properties to properties of the atoms composing them was rarely attempted. There is even the case of the physicist OSTWALD who felt that this *de facto* situation had a philosophical basis. To him, atoms were constructs which could never be directly observed, and he was rather annoyed by the flourishing kinetic theory of gases in which these constructs came so close to being real. OSTWALD's form of positivism is now dead. The fate of his philosophy ought, perhaps, make us a little suspicious of similar arguments of a philosophical vein which have been used in more recent scientific discussions.

The era of particles was inaugurated by J. J. THOMSON when he discovered the electron in 1896. It seems that realism in science comes more easily to Englishmen that to others. It is, therefore, not surprising that the search for conceptually simple experiments (which is, of course, not the same as experiments made with simple apparatus) was particularly intense in that country. THOMSON found his simple experiment among the phenomena incident to the electric discharge in gases; this field contains many very complicated effects which even today are only poorly explained. However, as the pressure of the discharge is lowered, these effects give rise to a splendid simplicity which has been vulgarized in the modern television tube. The properties of cathode rays are explained by assuming them to be negatively charged point particles of fixed charge and mass. THOMSON named these particles *electrons*. Thus, the electron is the first in the modern family of particles. In weighing the significance of this concept we must, of course, remember its theoretical convenience: mechanics deals with relative ease with the kinetics of point particles. This ease permitted NEWTON to write down the laws of motion of the planets, yet it does not prevent these planets from being very complicated things whose structure will probably never be fully unravelled. It is, therefore, natural that the point electron was originally thought of as a model, and that atoms and molecules were still thought of for some time after as a continuum filling all voids when in the liquid or solid state.

The next step in the emergence of the particle concept was the discovery by RUTHERFORD of the atomic nucleus in 1911. Not only were electrons like point particles, but the positively charged remainder of the atom also acted like one. This picture had to be modified in the light of later evidence. Only the nucleus of the atom of hydrogen, the atom of lightest weight, is an elementary particle to us today. This particle is called the *proton*. All the other nuclei are, while very compact on an atomic scale, fundamentally composite, consisting of protons and neutrons. Thus, even though the idea of the atomic nucleus as a particle proved to be false, the elucidation of the true situation has enhanced further the idea that matter generally is made up of elementary point particles.

For the purpose of this article, namely the discussion of the particle concept in solid state physics, there is no need to go any further into the development of particle physics. However, if we did break off at this point, then the reader would be unable to appreciate the intellectual situation in which we find ourselves. The particle concept has acquired a tremendous grip over physics in general in the last thirty years. Rather unexpectedly, the advent of quantum mechanics in 1925 to 1930 has strengthened this grip. Before this event there was a competing elementary concept in physics, that of a wave traversing a medium. Quantum mechanics showed that this wave picture is in fact an alternative aspect of the particle concept. So, this competitor is now eliminated through fusion, and the particle picture has spread into wave phenomena. In the case of light we now speak of photons, in the case of sound of phonons, etc. There is a second way in which quantum mechanics has reinforced the particle concept. It is a harder form of mechanics. It is difficult to conceive a quantum mechanics of an extended body, to say nothing of computing its properties. So, we find now that the simplicity of the particle concept is even more forcing for the modern theorist than it was for his predecessor in 1900. The advent of the theory of relativity has acted in the same direction. A further extension of the particle concept has arisen from the probing of the atomic nucleus with projectiles of higher and higher energy. Many of the phenomena observed in this probing are explained by the appearance of elementary particles which are not stable, but finally decay into the stable particles discussed above. The number of elementary particles now known is about thirty.

* Bell Telephone Laboratories, Murray Hill (New Jersey).

This background may be sufficient to indicate how thoroughly we are now wedded to the concept of a universe composed of point-like particles. In other words, a model which was considered crude when proposed fifty years ago has acquired a weight which nobody would have then expected. Is this concept of absolute validity?

In the assessment of this question solid state physics may, perhaps, play an important role. It is a field of physics extremely rich in structure in which precise measurements are relatively easy. Yet, at the same time, it is felt at this time that the fundamental basis of the subject has been laid. Only the existence of electrons and atomic nuclei as particles must probably be assumed together with the uncomplicated quantum mechanics of the 1920's in order to explain the entire range of solid state phenomena. Such a situation enforces 'tight' reasoning: a theory with limited choice faces experimental results of great variety and precision. Successes of the theory under such conditions are worthy of a great deal of credence. Many of these successes are connected with the idea of a *quasiparticle*, that is a particle-like entity which exists only thanks to the medium in which it is embedded, and which ceases to exist as soon as the nature of the particle is probed through methods which tend to disrupt the solid as a medium. It is fairly certain that the complexity acquired by the particle concept in such a situation cannot be blamed on a mistaken theoretical approach.

Let us start with the least radical modification of the particle concept. It is well known that a certain fraction of the electrons in many solids act as if they were free. They move about in the material and can be drawn off as electric current. These electrons move in the solid as in a medium; hence, we must expect modifications of their properties as compared to a situation where they are really independent particles in the vacuum. The simplest change is in their mutual interaction. Their mutual coulomb repulsion must certainly be modified by the dielectric constant of the medium. In addition, the floating mobile charge itself reduces the range of the force between any given pair, thus leading to a force falling off more rapidly with distance than $1/r^2$. These modification would still leave the electron recognizable through its charge and mass. However, a more profound effect arises through the presence of atomic cores with strong positive charge. Even electrons which act as free are in some kind of electronic shell with respect to such atoms. Their free motion is thus not in a simple straight line, but a line with loops around the atoms as shown in Figure 1. Thus, the motion is not rectilinear when considered in the small. It becomes so again, however, when displacements large compared to the atomic spacings are considered. As a consequence, Newton's first and second law are finally validated for these electrons in a coarse sense. But, there is obviously no reason to expect the response to an applied force to be exactly like that of a truly free electron. Indeed, one finds that the inertial mass has to be replaced by a different constant in some solids; in others the mass becomes a tensor depending on the crystalline direction, and in others still the kinetic energy must be taken as a more general function of the momentum. Thus, we have finally a quite seriously modified 'electron' arising from these features.

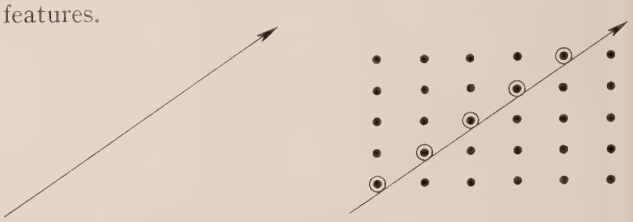


Fig. 1: Simple rectilinear motion as compared to the motion of an electron through the crystalline lattice of a solid. The motion on the right is complicated in detail, but is rectilinear in the mean when averaged over long distances

The next modification of the particle concept arises in the sign of the charge. It should be said here in passing that this type of modification is not original with solid state physics, but is borrowed from the theory of the positron. But here again, the reasoning is particularly tight when applied to electrons in solids, and leaves therefore essentially no freedom either in the technique or the interpretation. Since each electron belongs to a definite electronic shell, we can conceive of an electron missing in such a shell. Such a defect can propagate itself through a crystal in essentially the way indicated in Figure 1, thereby acting as a quasiparticle. This *defect electron* is usually called a *hole*. One can show that it also obeys Newton's first two laws of motion and has inertial properties which are very similar to the ones just discussed for conduction electrons. The charge of the defect electron is, of course, positive. It is a fullfledged quasiparticle which can be observed as such in many experiments on semiconductors.

Is there a distinction between particles and quasiparticles? In the context of solid state theory with its conventional quantum mechanical basis there is such a distinction. For an electron we can construct a wave packet as small as we please by using De Broglie waves of small wave lengths in its construction. In this way localization can be pushed well beyond the atomic scale, and is in fact realized for β-particles traversing matter. Of course, such a packet no longer belongs to a given atomic shell, but is composed of waves belonging to many shells, and perhaps even of waves too short to form part of any shell. Obviously, the localization of a defect electron cannot be pushed that far even in principle. A missing electron must be missing from a place where the usual constituent electrons of a solid are. If it is missing from a definite shell, then a wave packet smaller than the size of an electron orbit in

that shell cannot be constructed. Thus, the defect electron as a particle will slip us through the fingers if we use more and more powerful apparatus to find its position.

Several other quasiparticles have arisen in solid state physics. The oldest, in a sense, is the *phonon*, a quantum of sound. Its existence was essentially clear as soon as the quantization of light had been proved. The quasiparticle nature of the phonon is particularly obvious. Sound is a wave-like disturbance among the atomic positions in a solid. Its wave length cannot be less than an interatomic distance, and therefore the energy of a phonon:

$$\text{energy} = \frac{h \times (\text{velocity of sound})}{\text{wave length}}$$

is strictly limited, usually to less than one electron volt. Only for such low energy phenomena can we expect the phonon to 'exist'. As soon as a sizeably larger amount of energy is pumped into an atomic displacement, the atom must be considered individually and the solid matrix will be disrupted. Thus, we deal with a different type of particle according to circumstances. A similarly ephemeral existence is lead by the *quantum of spin waves* (a wave-like disturbance in the magnetization of ferromagnets) and the *Bogoljubov particle*, an electron-like particle whose charge depends on its energy and which acquires stability only in the superconducting state of a metal.

In the present-day context of solid state physics the distinction of particles and quasiparticles is fairly obvious and quite useful. However, the distinction is almost certainly not fundamental. We may see this particularly well if we compare the electron-hole concept with the electron-positron theory of Dirac. According to the Dirac theory of the electron the energy of an electron equals:

$$E = \pm \frac{m c^2}{\sqrt{1 - \frac{v^2}{c^2}}}$$

where m is the electron mass, c the velocity of light and v the electron velocity. Abundant analysis has shown the double sign to be unavoidable. The spectrum of possible states is thus as shown in Figure 2(a): two continua, separated by a gap of 2 mc^2. Vacuum must be thought of as a condition in which the negative energy states are filled and the positive ones empty. Transfer of an electron from a negative to a positive energy state produces then two particles, as explained earlier, an electron and a defect in the negative energy spectrum. This defect is called a *positron* because of its effective positive charge. The positron as a particle is very well known and electron-positron pair production agrees in every way with the Dirac theory as outlined. The analogy with the band properties of solids, as sketched in Figure 2(b) reaches very far. In a semiconductor or insulator, all bands up to a certain level are filled. In some cases electrons from the highest filled band can be induced to transfer to the lowest empty band. This produces also a pair, namely an excess electron and a defect electron or hole. There are essentially two differences between the two cases. First, the energy scale in the two cases differs by a factor 10^6, and second, the excess-defect pair is reducible to a more fundamental structure consisting of real electrons and atomic nuclei. The first distinction is a numerical one only and cannot be thought of as qualitative. The second one appears to make the electron-positron pair real and the excess-defect pair two quasiparticles.

Upon closer inspection these distinctions between particles and quasiparticles lose much of their sharpness and the second appears simply as the first expressed in a different form. In modern field theory all elementary particles are looked upon as wave-like modifications of the vacuum state similar to light waves. We could then comment upon the above distinction by saying that the excess and defect electrons are easily recognized as quasiparticles because their production is a low energy phenomenon. For an electron-positron pair this is not so easy, but it is not unreasonable to suppose a similar situation. The electron-positron pair is unstable, and all the more recently discovered particles are likewise. Therefore, we must think of vacuum as a medium in which particles can be produced under certain conditions. The stability of certain particles is then a historical accident, arising from the fact that they are more abundant than the antiparticles which could annihilate them. All particles become thereby quasiparticles and it becomes the business of physics to elucidate the structure of the medium called 'vacuum' or 'ether' in which these particles appear as transitory phenomena.

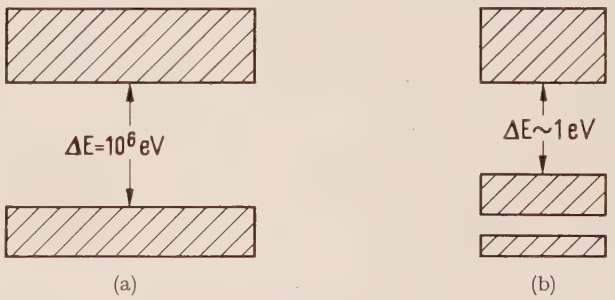


Fig. 2: Comparison of the bands of possible energy states for an electron (a) in vacuum, (b) in a typical solid. The band gap on the left differs only in scale from the gaps on the right

Zusammenfassung

Der Begriff des Elementarteilchens ist zentral in der Struktur der modernen Physik. Sein Ursprung und seine historische Entwicklung werden erläutert. Die Festkörperphysik hat zu dieser Entwicklung einen speziellen Beitrag geleistet; der Beitrag ist das Quasiteilchen, das heisst eine Anregung im Festkörper, die sich wie ein Elementarteilchen verhält. Es ist endlich gezeigt, dass die Unterscheidung zwischen Teilchen und Quasiteilchen nicht gründsätzlich ist.

Fortschritte der Vulkanologie

Von A. RITTMANN

Bis vor einem halben Jahrhundert war die Vulkanologie eine beschreibende Wissenschaft, die – zumeist nur gelegentlich – von Geographen und Geologen ausgeübt wurde. Die meisten Nachrichten über Vulkanausbrüche stammten von zufälligen, nicht geschulten Beobachtern und wurden von mehr oder weniger dilettantischen Forschungsreisenden gesammelt. Nur wenige aktive Vulkane, wie zum Beispiel der Vesuv und der Ätna, wurden dauernd von Fachleuten unter Beobachtung gehalten. Andere wurden von Vulkanologen besucht, sobald man erfuhr, dass ein Ausbruch begonnen hatte. Mit der zunehmenden Verbesserung des Verkehrs steigerte sich die Zahl der – wenigstens teilweise – beobachteten Eruptionen immer mehr, und heute ermöglicht der Luftverkehr eine fast lückenlose Überwachung der Mehrzahl der tätigen Vulkane durch Militärflieger und Zeitungsreporter, denen Flugzeuge leichter zur Verfügung stehen als den Fachwissenschaftlern.

Das gesteigerte Interesse an geophysikalischen Untersuchungen hat in den letzten Jahren dazu geführt, dass manche besonders interessante Vulkane mit seismographischen Stationen versehen wurden, in denen Registrierinstrumente das leichteste Zittern und Beben des Vulkanbaus aufzeichnen. Dadurch und mit Hilfe von klinographischen, gravimetrischen und magnetometrischen Messungen erhalten wir Angaben über Vorgänge, die sich in der Tiefe abspielen und, wenn wir einmal über ein reicheres statistisch auswertbares Material verfügen, wohl auch die Vorhersage kommender Ereignisse ermöglichen werden. Leider sind solche modern eingerichteten geophysikalischen Überwachungsstationen recht kostspielig und deshalb an den europäischen Vulkanen noch nicht oder nur in sehr rudimentärer Ausführung vorhanden. Ihre Leistungsfähigkeit wurde jedoch in Asien, Amerika und Afrika bereits erprobt.

Viel besser als über die Tätigkeit der Vulkane sind wir über das von ihnen geförderte Material unterrichtet. Zahlreiche Petrographen haben die mineralogische und chemische Zusammensetzung von Laven tätiger und schon längst erloschener Vulkane eingehend untersucht, und durch die grossen Fortschritte in der Konstruktion von Polarisationsmikroskopen und in der Silikatanalyse sind wir heute in den Stand gesetzt, in verhältnismässig kurzer Arbeitszeit eine vollständige quantitative Analyse eines Vulkanits durchzuführen. Die modernen geochemischen und statistischen Berechnungsmethoden ermöglichen die rationelle Auswertung dieser Untersuchungsergebnisse.

Die geologische Untersuchung von Vulkanen, und besonders von tieferodierten Vulkanen vergangener geologischer Epochen, hat uns über ihren inneren Bau, über die Struktur ihres Untergrundes und über die Zusammenhänge zwischen Vulkanismus und Tektonik der Erdkruste ausgiebig unterrichtet. Von ganz besonderer Wichtigkeit ist die von den Geologen festgestellte Tatsache, dass in den Geosynklinalen, aus denen sich später die Faltengebirge entwickelten, eine ausserordentlich starke effusive Vulkantätigkeit am Grunde des Meeres geherrscht hatte. Die Produkte dieser Eruptionen bilden die durch die Gebirgsbildung metamorphosierten Grünschiefer (Ophiolithe), die in den Alpen und ähnlichen Kettengebirgen sehr häufig sind, so dass wir schliessen dürfen, dass der Geosynklinalvulkanismus mindestens ebenso wichtig ist wie der direkt beobachtbare subaerische Vulkanismus. Es darf als gesichert angenommen werden, dass auch in den heutigen Tiefseerinnen effusive Spalteneruptionen häufig sind, obschon an der Meeresoberfläche nichts von ihnen zu sehen ist, da die entweichenden Gase auf dem langen Wege zur Oberfläche vom Wasser absorbiert werden. Durch geophysikalische Registrierungen und geologische Untersuchungen an alten, hochgehobenen Ozeanböden, sowie durch das zufällige Auffinden gesottener Tiefseefische ist ihr Vorhandensein jedoch bewiesen.

Eine wiederum andere Art von Vulkanismus, der in historischer Zeit nicht beobachtet worden ist, besteht im Hervorbrechen von Glutwolken aus Spalten, wodurch grosse Gebiete des Festlandes mit Hunderte von Metern dicken Lagen von verschweissten Vulkanaschen bedeckt wurden. Solche Ignimbritdecken wurden zuerst in Neuseeland entdeckt (MARSHALL[1]), sind aber auch anderswo weit verbreitet, wie zum Beispiel im Permokarbon der Alpen (Bozener Quarzporphyre, gewisse Albitgneise im Penninikum usw.) und im Jungtertiär Mittelitaliens (M. Amiata, Tolfa usw.). Auf Sumatra scheinen solche Ausbrüche nach den Überlieferungen der Eingeborenen auch in prähistorischer Zeit stattgefunden zu haben. Viel kleinere Glutwolkenausbrüche einer allerdings etwas anderen Art sind auch an Zentralvulkanen beobachtet worden, wie zum Beispiel an der Montagne Pelée (LACROIX[2]), bei denen ebenfalls Suspensionen von festen und geschmolzenen Partikeln in heissen Gasen gefördert wurden.

Die wichtigsten Ergebnisse dieser vielseitigen Forschungen an Vulkanen können folgendermassen zusammengefasst werden:

Bei allen Vulkanausbrüchen werden Gase und schmelzflüssige Laven gefördert. Je nach der Heftigkeit der Gasentweichung treten die Laven als zusammenhängende Ströme oder in zerspratzter Form als

[1] P. MARSHALL, Transact. Proc. Roy. Soc. New Zealand (1935), p. 64.

[2] A. LACROIX, *La Montagne Pelée et ses éruptions* (Masson & Cie, Paris 1904).

Schlacken, Bimssteine oder Aschen zutage (vgl. Abb. 1). Die Hauptbestandteile der Gase sind Wasser, Kohlenoxyde, Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Salzsäure usw. Vor dem Ausbruch sind diese Gase unter hohem Druck in der Silikatschmelze gelöst, die man Magma nennt. Kommt das Magma unter geringeren Druck, wie dies zum Beispiel beim Aufreissen einer tiefgehenden Spalte der Fall ist, so trennt sich das Magma unter Aufschäumen in Lava und eine Gasphase, die je nach der Viskosität der Schmelze mehr oder weniger explosiv entweicht und so den Vulkanausbruch verursacht. Der Vulkanismus ist somit ein Entgasungsprozess des Magmas.

Die Zusammensetzung der Laven schwankt in weiten Grenzen, wie dies an einigen Beispielen besonders häufiger Lavatypen in Abbildung 2 dargestellt ist. Basalte stellen die weitaus verbreitetste Lavaart dar, in deren Gesellschaft untergeordnete Mengen von Trachyten, Phonolithen und Tephriten auftreten, die durch alle Übergänge mit den Basalten verbunden sind. Diese Laven gehören der sogenannten atlantischen Sippe an, die an tektonische Bruchgebiete gebunden ist. Andesite und insbesondere Dazite und Rhyolithe bilden dagegen die pazifische Sippe, die in den Faltengebirgszonen (Orogenen) verbreitet ist. Die kalireichen Leuzittephrite und Leuzitite gehören der mediterranen Sippe an, deren Verbreitung auf wenige Gebiete beschränkt ist, die durch tektonische Einbrüche gekennzeichnet sind (siehe Abb. 3).

Die geographische Verteilung der Vulkane und der Vulkanitsippen beweist einen engen Zusammenhang zwischen Vulkanismus und Tektonik, dessen Erforschung die wichtigste Aufgabe der Vulkanologie ist, da er zeigt, dass man nicht unabhängige Theorien über Vulkanismus oder über die Gebirgsbildung aufstellen kann, sondern nur eine beide umfassende geodynamische Theorie, die alle geochemischen und geophysikalischen Tatsachen berücksichtigt und den Vulkanismus in seinen geologischen Rahmen stellt.

Schweremessungen und Untersuchungen über das seismische Verhalten der Erdkruste haben gezeigt, dass die Kontinente vorwiegend aus leichten, an Silizium und Aluminium reichen Gesteinen («Sial») bestehen, die von schwereren, an Silizium und Magnesium reichen Gesteinen («Sima») unterlagert sind. Dieses Sima bildet die Kruste unter den Ozeanen vom Pazifiktypus, wo das Sial fehlt (siehe Abb. 4). Die grosse Häufigkeit der Basalte hat DALY[3] veranlasst, unter der kristallinen Erdkruste eine Basaltschale anzunehmen, die dem Sima analog zusammengesetzt ist.

Auf Grund dieser Arbeitshypothese und zahlreicher experimenteller Untersuchungen über die Erstarrung von Silikatschmelzen, die im «Geophysical Laboratory of Washington» ausgeführt wurden, hat BOWEN[4] in seinem berühmten Buch *The Evolution of Igneous Rocks* eine physikalisch-chemisch wohlbegründete Hypothese entwickelt, in der er nachzuweisen versuchte, dass sich alle bekannten Lavatypen durch Differentiation aus einem basaltischen Stammagma entwickelt haben. Etwa gleichzeitig beschrieb NIGGLI[5] die Rolle der leichtflüchtigen Bestandteile im Magma und wies nach, dass bei der Kristallisation des Magmas eine thermisch rückläufige Dampfdrucksteigerung auftritt,

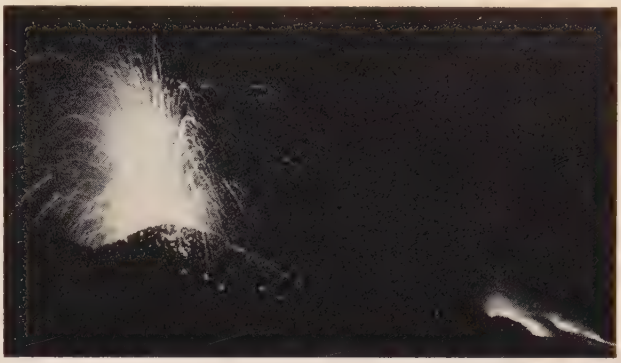


Abb. 1: *Tätigkeit des Ätna im Frühjahr 1958.* (Nachtaufnahme) Die explosiv entweichenden Gase werfen glühende Lavafetzen etwa 200 m hoch aus dem Krater, während die entgaste Lava ruhig aus einer seitlichen «Bocca» ausfliesst

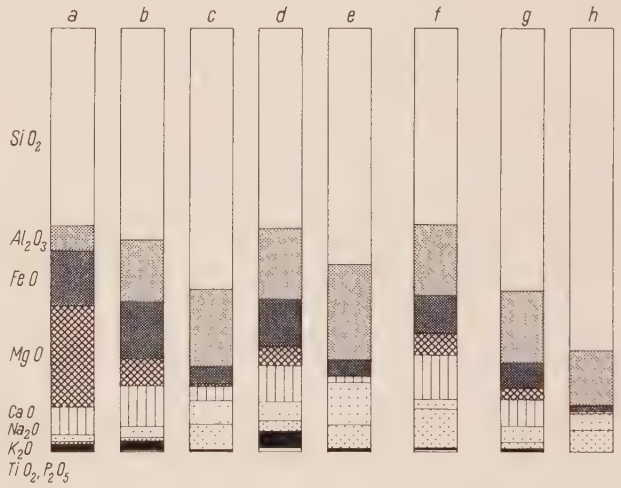


Abb. 2: *Chemische Zusammensetzung einiger wichtiger Lavatypen* Gew.%

a) olivinreicher Basalt, sog. Ozeanit (Hawaii)
b) Mittlere Zusammensetzung der Deckenbasalte
c) Trachyt (Ischia bei Neapel)
d) Nephelintephrit (Hawaii)
e) Phonolith (Marquesas-Inseln)
f) Leuzitit (Capo del Bove, Rom)
g) Dazit (Guntur-Vulkan, Java)
h) Rhyolith (Lipari-Insel, Sizilien)

a bis e = atlantische Sippe
f = mediterrane Sippe
g und h = pazifische Sippe

[3] R. A. DALY, *Igneous Rocks and the Depths of the Earth* (McGraw-Hill Co., London 1933); *Igneous Rocks and their Origin* (McGraw-Hill Co., London 1914).

[4] N. L. BOWEN, *The Evolution of the Igneous Rocks* (Princeton Univ. Press 1928).

[5] P. NIGGLI, *Die leichtflüchtigen Bestandteile im Magma*, Preisschr. Fürstl. Jablonowskische Ges. zu Leipzig, Nr. 47 (Leipzig, B. G. Teubner, 1920); *Das Magma und seine Produkte unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses der leichtflüchtigen Bestandteile* (Leipzig 1937).

Abb. 3: *Geographische Verteilung der tätigen Vulkane*

Punkte = Vulkane der Inselguirlanden und Kettengebirge mit Laven der pazifischen Sippe
Ringe = Vulkane auf ozeanischen Inseln und kontinentalen Bruchgebieten mit Laven der atlantischen Sippe
Kreuze = Vulkane in Einbruchsbecken mit Laven der mediterranen Sippe: Vesuv, Oshima (Japan), Batu Tara (Indonesien)
Schraffiert = Linearvulkane mit basaltischen Ergüssen (Island)

durch die der Eruptionsmechanismus der Vulkane erklärt werden könnte. Die Verbreitung der Vulkanitsippen wurde auf die durch tektonische Vorgänge bedingten Druck- und Temperaturverhältnisse zurückgeführt, die die Differentiationsvorgänge im Magma entscheidend beeinflussen sollten. Damit schienen die Grundfragen der Vulkanologie beantwortet zu sein.

Neue Feldbeobachtungen bestätigten jedoch immer mehr die schon von Sederholm[6] 1905 erkannte Tatsache, dass Granite durch Metamorphose und schliessliche Einschmelzung von präexistierenden Gesteinen entstehen können, dass also saure Magmen nicht Differentiate eines subkrustalen Basaltmagmas zu sein brauchen, sondern anatektischen Ursprung haben können. Die Forschungen von Backlund[7] und Wegmann[8] in Skandinavien und Grönland bewiesen die ungeheure Verbreitung der durch «Granitisierung» und «Anatexis» entstandenen granitartigen Gesteine. Bei diesen Umwandlungen spielen offenbar intergranulare Lösungen von pegmatitischem Charakter eine grosse Rolle, die schon von Sederholm[6] als «Ichor» bezeichnet wurden. Einige französische Forscher gingen sogar so weit, die Granitisierung als einen Ionenaustausch im festen Zustand zu betrachten ohne Mithilfe eines Ichors.

Als nun die Seismologen nachwiesen, dass sich die Erde bis zu einer Tiefe von 2900 km den Erdbebenwellen gegenüber wie ein fester Körper verhält, wurde sogar der Schluss gezogen, dass es überhaupt keine Magmaschale gäbe, sondern dass die Vulkane von kleinen durch lokale Einschmelzung des Krustenmaterials entstandenen Magmaherden gespeist werden. Das seismisch feste Verhalten des Erdmantels verleitete überdies zum Schluss, dass die Temperaturen im Erdinnern so niedrig sind, dass der Schmelzpunkt des vorliegenden Materials erst im Erdkern erreicht wird.

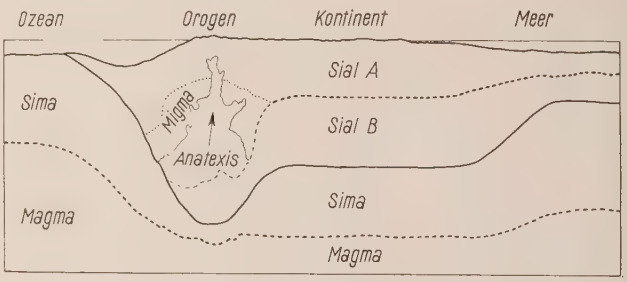


Abb. 4: *Schematischer Querschnitt durch die Erdkruste bis etwa 100 km Tiefe*

Das primäre Olivinbasaltmagma (siehe Abb. 2a) bildet das Substratum der Kruste und kann, ausserhalb der Orogene, aus tektonischen Zerrspalten aufsteigen und ausbrechen. Sekundäre Magmen entstehen bei Orogenesen innerhalb der sialischen Erdkruste durch Anatexis und intrudieren (Pfeil)

[6] J. J. Sederholm, *Om Palingenesen i den Sydfinska Skärgarden* (Geol. Fören, Stockholm 1912); *On migmatites and associated pre-Cambrian rocks of Southern Finland*, Bull. Comm. Géol. Finlande, 107.

[7] H. G. Backlund, C. R. Soc. géol. Finlande 9; Bull. Comm. géol. Finlande 115, p. 293.

[8] C. E. Wegmann, Geol. Rundschau, *26*, 305 (1935).

Ein solches Erdbild ist so gut wie unvereinbar mit der Hypothese, dass die Erde durch Kondensation aus heisser Stellarmaterie entstanden sei. Die Planetesimalhypothese von MOULTON[9] und CHAMBERLIN[10] wurde daher wieder aufgegriffen und von UREY[11] weiter entwickelt. Danach hätte sich die Erde durch Zusammenballung von kaltem meteoritischem Material aufgebaut und verdankte ihre heutige Temperatur teils der Ballungswärme, teils der durch radioaktiven Zerfall erzeugten Wärme.

Der Vulkanologe steht dieser «kalten Hypothese» ablehnend gegenüber, da sie keinerlei Erklärungsmöglichkeit für den Vulkanismus und dessen offenbare Zusammenhänge mit der Gebirgsbildung bietet. Die von Geophysikern geäusserte Ansicht, dass sich lokale Magmaherde durch tektonische Druckentlastung oder durch radioaktiv erzeugte Wärme bilden können, hält einer genaueren Prüfung nicht stand. Wären die Basaltmagmen durch radiogene Anatexis entstanden, so müssten sie reich an radioaktiven Elementen und deren Zerfallsprodukte sein. Tatsächlich gehören jedoch die Basalte zu den daran ärmsten Gesteinen. Die Einschmelzung eines kristallinen Gesteins infolge von Druckentlastung ist ebenfalls ausgeschlossen, wie an Hand eines Zustandsdiagramms des Basaltmagmas leicht nachgewiesen werden kann[12]. In einem bereits geschmolzenen, unter hohem Druck stehenden Magma bewirkt die Druckentlastung, wie sie durch das Aufreissen einer abyssalen Zerrspalte in der Erdkruste bewirkt wird, eine sehr rasche Abnahme der Viskosität um viele Grössenordnungen. Über die Wahrscheinlichkeit eines seismisch festen Verhaltens des hochviskosen subkrustalen Magmas kann kein Zweifel mehr bestehen, seit KUHN und VIELHAUER[13] in Basel ein solches clastikoviskoses Verhalten selbst in tropfbar flüssigen Körpern experimentell untersucht und die Gültigkeit der Maxwellschen Beziehung nachgewiesen haben, die aussagt, dass die Viskosität gleich dem Produkt aus Righeit und Relaxationszeit ist[14]. Damit ist der Einwand der Geophysiker gegen die Existenz einer schmelzflüssigen Magmazone, ohne die der basaltische Vulkanismus nicht erklärbar wäre, vollständig entkräftet. Das Vorhandensein eines solchen subkrustalen Magmas setzt aber in etwa 80 km Tiefe eine Temperatur von etwa 1300°C voraus, die mit der Planetesimalhypothese völlig unvereinbar ist.

Das scheinbar so wohl begründete Bild der Magmatiker hat sich aber dennoch als teilweise unrichtig erwiesen, da die Tatsachen beweisen, dass bei jeder Orogenese saure Magmen durch Anatexis sialischer Gesteine neu entstehen und nicht vom subkrustalen Magma abstammen. Die oft sehr heftige Diskussion zwischen den von NIGGLI[5] angeführten Magmatikern und den Anhängern der Granitisierungslehre, die besonders von WEGMANN verfochten wurde, erinnerte an den klassischen Kampf zwischen Plutonisten und Neptunisten. Heute kann kein Zweifel mehr bestehen, dass jene Diskussionen angesichts der Tatsachen mit einem Kompromiss enden müssen, da offenbar beide Lehren Teilwahrheiten verkünden. Unter Berücksichtigung der bekannten geologischen, geophysikalischen und geochemischen Tatsachen und deren Interpretierung auf Grund der physikalisch-chemischen Gesetzmässigkeiten kommt der Vulkanologe zu Schlussfolgerungen, deren Grundzüge etwa folgendermassen zusammengefasst werden können:

Der Vulkanismus ist im wesentlichen ein Entgasungsprozess der Erde.

Die Gase sind im Magma der Tiefe in molekularer Lösung vorhanden. Bei Druckentlastung infolge von tektonisch bedingter Spaltenbildung scheidet sich eine freie Gasphase ab, das Magma schäumt auf und dringt durch die Spalte zur Erdoberfläche empor und verursacht dort vulkanische Ausbrüche, bei denen die Gase in die Atmosphäre entweichen oder (bei submarinen Ausbrüchen) vom Meerwasser absorbiert werden. Die subaerischen Ausbrüche sind um so explosiver, je höher die Viskosität des erumpierenden Magmas ist. Trotz der grossen Verschiedenheit der Ausbruchserscheinungen ist der Eruptionsmechanismus im Grunde immer derselbe und kann, unter Berücksichtigung der lokalen Bedingungen, bis ins einzelne befriedigend erklärt werden. Immer handelt es sich um einen Entgasungsvorgang des Magmas infolge von Druckentlastung.

Was die Herkunft der Magmen und ihre in weiten Grenzen schwankende Zusammensetzung anbetrifft, macht man sich etwa folgendes Bild:

In etwa 80 km Tiefe unter den Kontinenten und in geringerer Tiefe unter den Ozeanen wird eine Temperatur von 1300°C erreicht. Von dort ab beginnt die Magmazone. Die Zusammensetzung dieses primären subkrustalen Magmas dürfte derjenigen eines sehr olivinreichen Basalts entsprechen (siehe Abb. 2a), wie dies auch für das «Sima» (siehe Abb. 4) anzunehmen ist. Beim Aufstieg dieses Magmas auf abyssalen Spalten bleiben die bereits ausgeschiedenen Olivinkristalle $(Mg, Fe)_2SiO_4$, zurück und bilden in geringer Tiefe einen Kristallbrei, während das olivinfreie oder -arme Magma in Spaltenergüssen zutage bricht und die grossen Basaltdecken bildet. In Tiefseerinnen und Geosynklinalen wird jedoch auch der Kristallbrei gefördert und vom Meerwasser während seiner Abkühlung in Serpentin verwandelt, der unter den Grünschiefern der hochgehobenen und verfalteten Geosynklinalablagerungen eine grosse Rolle spielt. Der stoffliche Unterschied zwischen den kontinentalen Basalten und den geosynklinalen Laven ist danach einer gravitativen Diffe-

[9] F. R. MOULTON, Astrophys. J. *90*, 675 (1905).
[10] T. C. CHAMBERLIN, Astrophys. J. *14*, 17 (1905).
[11] H. C. UREY, *The Planets: their Origin and Development* Yale University Press, New Haven 1952).
[12] Vgl. A. RITTMANN, Bull. volc. *19*, 85 (1958). Physico-chemical interpretation of the terms magma, migma, crust and substratum.
[13] W. KUHN und S. VIELHAUER, Z. physikal. Chemie *202*, 124 (1953).

rentiation während des Magmaaufstiegs zu verdanken und wird durch den Einfluss des Meerwassers und die während der Gebirgsbildung auftretende Regionalmetamorphose noch verstärkt.

In tektonischen Bruchgebieten kommt es häufig zur Bildung von lokalen Magmaherden, die meist kleine Zentralvulkane speisen. In solchen, verhältnismässig in geringer Tiefe liegenden Herden sind die Bedingungen für allerlei Differentiationsvorgänge sehr günstig, da das Magma an die kühlere Umgebung Wärme abgibt und deshalb Kristalle ausscheidet. Dabei verändert sich die Zusammensetzung der Restschmelze, und wenn die Kristalle absinken, so bleibt in den oberen Teilen des Herdes ein differenziertes Magma zurück, das schliesslich trachytische Zusammensetzung aufweist (vgl. Abb. 2c). Je nach den lokalen Umständen, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann[14], kann aber auch der sogenannte Gastransport eine wichtige Rolle spielen. Durch ihn werden vorwiegend Alkalien in den oberen Teilen des Magmaherdes angereichert, wodurch basaltisches Magma (Abb. 2b) in tephritisches (2d) und trachytisches (2c) in phonolithisches Magma (2e) verwandelt wird. In seltenen Fällen kommt das basaltische Magma oder ein aus ihm durch Differentiation entstandenes Trachytmagma mit Karbonatgesteinen am Dach des Herdes in Kontakt und assimiliert dieselben. Infolge dieses Vorgangs und weiterer Differentiationen entstehen Magmen, aus denen Leuzite und sogar Melilithe auskristallisieren. Die leuzitführenden Laven (2f) kennzeichnen die Magmen der mediterranen Sippe. Das bestuntersuchte Beispiel eines Vulkans, der solche Laven fördert, ist der Vesuv.

Durch diese Differentiationen können alle atlantischen und mediterranen Magmatypen zwanglos erklärt werden, nicht aber die pazifischen der Inselguirlanden und Kettengebirge (siehe Abb. 3). Alle theoretischen Versuche, sie durch Differentiation aus dem primären Olivinbasaltmagma abzuleiten, stehen mit den Beobachtungstatsachen im Widerspruch, die eindeutig darauf hinweisen, dass die dazitischen bis rhyolithischen Magmen (siehe Abb. 2g,h) in der Hauptsache durch Einschmelzung präexistierender sialischer Gesteine, das heisst durch Anatexis entstehen. Andere mögen, allerdings nur in untergeordneten Mengen, durch Assimilation von sialischem Material von seiten eines in der Erdkruste hochgedrungenen Basaltmagmas und Differentiation des so entstandenen syntektischen Magmas gebildet werden. Wieder andere verdanken ihre Entstehung der Vermischung von primärem Basaltmagma und sekundären anatektischen Magmen und Differentiation der hybriden Schmelze. Diese Vorgänge sind bis jetzt nur in ihren Grundzügen erforscht, und es dürfte noch geraume Zeit dauern, bis wir eine genetische Systematik der Laven aufstellen können, die die ungenügende und widerspruchsvolle, rein phänomenologische petrographische Klassifikation zu ersetzen vermag.

Durch die Einführung physikalischer und chemischer Methoden hat sich die Vulkanographie zu einer eigentlichen Vulkanologie entwickelt, die sich nicht nur mit den aktiven Vulkanen und ihren Ausbrüchen befasst, sondern vor allem auch die Vorgänge in der Tiefe und ihre Zusammenhänge mit dem gesamten geologischen Geschehen zu ergründen versucht. Nur in diesem weitgesteckten Rahmen wird es möglich sein, das wahre Wesen und die wirkliche Bedeutung des Vulkanismus zu verstehen, dessen sichtbare Erscheinungen an der Erdoberfläche nur ein Rädchen im äusserst komplizierten Uhrwerk des geodynamischen und geochemischen Geschehens darstellt. Im Energiehaushalt der Erde stellt der Oberflächenvulkanismus nur einen winzigen Bruchteil dar und wird deshalb von vielen Geophysikern als «quantité négligeable» betrachtet. Seine Bedeutung beruht jedoch in seiner Qualität, ist er doch der einzige Vorgang, der uns direkte Kenntnis der stofflichen Natur des Magmas und der physikalisch-chemischen Vorgänge in grösseren Tiefen vermittelt, während die Seismik und Gravimetrik uns nur über das mechanische Verhalten des Erdinnern Auskunft gibt. Das Studium des aktiven Vulkanismus und des physikalischen Verhaltens der Erde enthüllt uns den gegenwärtigen Zustand der Erde, zu dessen wirklichem Verständnis seine Entstehungsgeschichte unbedingt notwendig ist. Diese zu ergründen ist Aufgabe der Geologie und ihres wichtigen Zweiges der Paläovulkanologie, die mit geologischen, petrographischen und geochemischen Methoden den Vulkanismus der geologischen Vergangenheit erforscht. Sie ist eine notwendige Ergänzung der Vulkanologie, da nur sie uns Auskunft erteilen kann über den Zusammenhang zwischen Vulkanismus und Gebirgsbildung und über Arten der vulkanischen Tätigkeit, die heute nicht auftreten oder der Beobachtung unzugänglich sind, wie zum Beispiel der Tiefsee- und Geosynklinalvulkanismus oder die grossartigen Ignimbritausbrüche spätorogener anatektischer Magmen.

Die Vulkanologie ist daher in erster Linie eine geologische Wissenschaft, die in der glücklichen Lage ist, die sie interessierenden Vorgänge auch in der Gegenwart in voller Tätigkeit beobachten zu können. Die Vielseitigkeit ihrer Aufgaben bedingt die grosse Mannigfaltigkeit der angewandten Methoden: Historiker, Geographen Geologen, Petrographen, Geophysiker, Geochemiker, Physiko-Chemiker und Ingenieure haben diese Methoden entwickelt. Da es kaum möglich ist, dass ein Vulkanologe alle diese Methoden beherrscht, ist eine verständnisvolle Zusammenarbeit von Spezialisten erforderlich, wie dies im Rahmen der «Association Internationale de Volcanologie» geübt wird. Die «A.I.V.» gibt das «Bulletin volcanologique» und einen «Katalog der tätigen Vulkane und Solfatarenfelder»

[14] Näheres siehe A. Rittmann, *Vulkane und ihre Tätigkeit*, 2. Aufl. (Verlag Enke, Stuttgart 1960).

heraus. Sie ist eine der sieben Assoziationen, die die «Union Internationale de Géodésie et Géophysique» bilden. An Kongressen und Symposia ermöglicht diese Organisation den persönlichen Kontakt zwischen den Forschern aller Länder und trägt dadurch wesentlich zum Fortschritt der Vulkanologie bei.

Riassunto

L'autore mette in evidenza che gli studi vulcanologici hanno avuto negli ultimi decenni un notevole impulso in seguito alla sempre più perfezionata attrezzatura scientifica degli osservatori vulcanologici e soprattutto per il progresso degli studi geologici, petrografici, geofisici e geochimici.

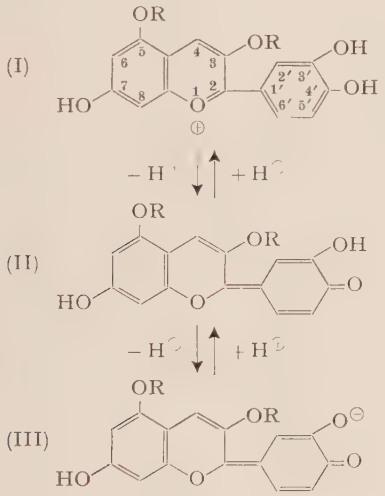
Egli illustra i più importanti risultati (ottenuti) riguardanti principalmente l'origine dei magmi (primario ed anatettico), il meccanismo delle eruzioni, la distribuzione geografica dei vulcani e delle «serie magmatiche» e gli intimi rapporti fra fenomeni vulcanici e fenomeni tettonici.

Da questo quadro risulta che il vulcanismo deve essere considerato come un processo di degassazione della Terra e che la recente applicazione di metodi di ricerca fisici e chimici contribuisce all'ulteriore progresso della vulcanologia, la quale rimane essenzialmente una scienza geologica.

Vorgänge bei pH-Änderung und bei Belichtung eines Anthocyanidins

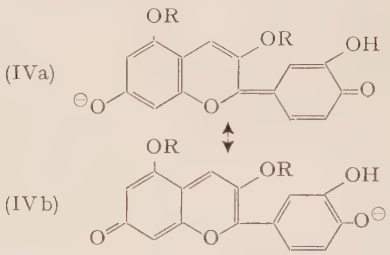
Von H. Kuhn und W. Sperling

Nach Willstätter[1] und Karrer[2] beruhen die Farbunterschiede von roten und blauen Blüten auf pH-Unterschieden in den Zellsäften der Blütenblätter; es wird angenommen, dass in saurer Lösung das rote Kation (I), in neutraler Lösung die violette chinoide Form (II) und in alkalischer Lösung das blaue Anion (III) auftritt:



Andererseits ist nach Robinson[3] die blaue Farbe der Blütenblätter auf eine Adsorption der Anthocyane an kolloidale Teilchen in den Zellsäften zurückzuführen; nach Shibata[4] beruht sie auf dem Vorliegen von Metallkomplexen der Anthocyane, und Komplexe des Eisens und Aluminiums mit Anthocyanen konnten kürzlich von Bayer[5] eindeutig nachgewiesen werden. Somit kann aus dem Verhalten wässeriger oder alkoholisch-wässeriger Lösungen von Anthocyanen oder Anthocyanidinen bei pH-Änderung nicht ohne weiteres auf das Verhalten der Anthocyane in den Blütenblättern geschlossen werden. Dennoch ist es von Interesse zu untersuchen, ob die Formen (I), (II) und (III) in Anthocyanidin-Lösungen auftreten und in welchen pH-Bereichen sie zu finden sind.

Es kann als gesichert gelten, dass in stark saurer Lösung die Form (I) vorliegt; die Absorptionsspektren solcher Lösungen sind eingehend untersucht worden[5–7]. Dagegen fehlen Angaben über die Spektren in neutraler oder alkalischer Lösung und die Angaben über die Farbumschlagsbereiche sind widersprechend. So existiert die Form (II) nach Fieser[8] im pH-Bereich 7 bis 8, nach Bayer[5] liegt sie schon bei pH 4,45 vor und nach Klages[9] tritt eine neutrale Form nicht auf. Auf Grund des Elektronengasmodells ist nicht zu verstehen, wie die Form (III) bereits blau sein kann[10], und es liegt daher nahe zu vermuten, dass an Stelle von (III) die Form (IV), welche besser mesomerie-stabilisiert ist (Grenzstrukturen (IVa), IVb), auftritt[9,10],



[1] R. Willstätter und A. E. Everest, Liebigs Ann. *401*, 194 (1913). – R. Willstätter und Th. J. Nolan, Liebigs Ann. *408*, 3 (1915). – R. Willstätter und E. K. Bolton, Liebigs Ann. *408*, 42 (1915), siehe insbesondere p. 60.

[2] P. Karrer, Rose Widmer, H. Helfenstein, W. Hürliman, O. Nievergelt und P. Monsarrat-Thoms, Helv. chim. Acta *10*, 742 (1927).

[3] R. und G. M. Robinson, J. Amer. chem. Soc. *61*, 1605, 1606 (1939).

[4] K. Shibata, Y. Shibata und I. Kasiwagi, J. Amer. chem. Soc. *41*, 208 (1919).

[5] E. Bayer, Chem. Ber. *91*, 1115 (1958), *92*, 1062 (1959).

[6] S. A. Schou, Helv. chim. Acta *10*, 907 (1927). – E. Sondheimer und Z. J. Kertesz, Analyt. Chem. *20*, 245 (1948).

[7] R. Wizinger u. Ch. Michaelidis, Helv. chim. Acta *34*, 1761 (1951).

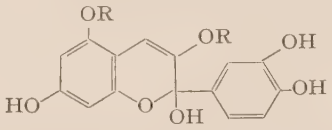
[8] L. F. und M. Fieser, *Lehrbuch der organischen Chemie* (Verlag Chemie, Weinheim 1960), p. 962.

[9] F. Klages, *Lehrbuch der organischen Chemie* (Verlag Walter de Gruyter, Berlin 1958), Bd. *3*, p. 172.

[10] H. Kuhn, Fortschr. Chem. org. Naturst. *16*, 169 (1958), insbesondere p. 174.

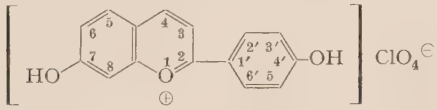
und dass die blaue Farbe der *in vivo* vorliegenden Metallkomplexe ebenfalls auf eine mit (IV) vergleichbare Form zurückzuführen ist[11]. Nach WILLSTÄTTER[12] sind Anthocyanidine in wässeriger Lösung nicht stabil und sollen in farblose Pseudobasen (V) übergehen.

(V)



Um das Verhalten der Anthocyanidine in den verschiedenen pH-Bereichen zu untersuchen, wurde als Modellsubstanz die Verbindung (VI)

(VI)



gewählt, welche nur die zur Bildung des interessierenden (zu (IV) analogen) Anions notwendigen OH-Gruppen in 4′ und 7 Stellung aufweist. Sie ist nach WIZINGER[7] präparativ leicht zugänglich. Die im folgenden betrachteten Versuche wurden, falls nicht näher beschrieben, in 10%iger Lösung von Methanol in Wasser bei 19°C und bei praktisch konstanter Ionenstärke (0,2 Mol/l) in gepuffertem Medium (Citrat-Phosphat-Borat-Puffer nach TEORELL und STENHAGEN[13]) durchgeführt. Der Methanolzusatz erfolgte zur Erhöhung der Löslichkeit des Farbstoffs.

1. Allgemeines über das Verhalten von (VI) bei pH-Änderung und bei Belichtung. Im Bereich unterhalb pH 2 und oberhalb pH 8 sind die Absorptionsspektren vom pH praktisch unabhängig. Abbildung 1 zeigt die Spektren bei pH 1,86 (Kurve 1; Absorptionsmaximum bei 459 mμ) und pH 8,6 (Kurve 2; Absorptionsmaximum bei 537 mμ).

In dem dazwischen liegenden pH-Bereich sind die Lösungen nicht stabil; die anfänglich orange bis violett farbigen Lösungen werden nahezu farblos, nachdem sie einige Minuten bis Tage, je nach pH, im Dunkeln gestanden haben, und beim Belichten gewinnen sie die ursprüngliche Farbe wieder zurück. Die Vorgänge sind beliebig oft wiederholbar. Unmittelbar nach Zusammengeben der sauren Farbstofflösung mit dem Puffer zeigen die Spektren eine neue Bande bei etwa 492 mμ, welche bei pH 6 besonders deutlich erscheint (Kurve 3). Lässt man die Lösung im Dunkeln stehen, so nimmt das Maximum bei 492 mμ wieder ab, und es baut sich ein Maximum bei 372 mμ auf (Kurve 4).

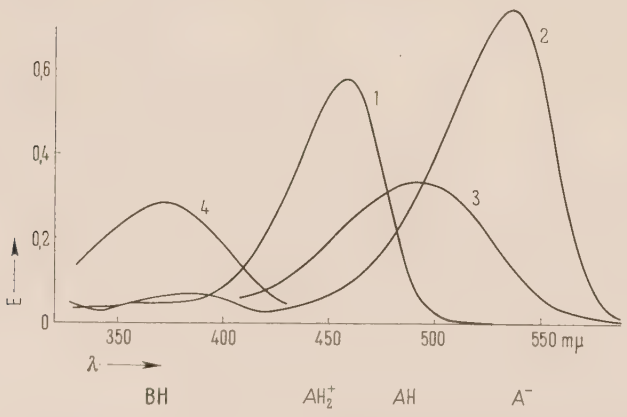


Abb. 1: Absorptionsspektrum von Farbstoff VI in methanolisch wässriger Lösung. Kurve 1: pH 1,86; Bande von Kation AH_2^+. Kurve 2: pH 8,6; Bande von Anion A^-. Kurve 3: pH 6,5, Messung sofort nach Mischen der sauren Farbstofflösung mit dem Puffer; Bande von neutraler Form *AH*. Kurve 4: pH 6,5, Messung nach Gleichgewichtseinstellung im Dunkeln; Bande von neutraler Form *BH* Konzentration $6{,}2 \cdot 10^{-6}$ Mol/l, Schichtdicke 2 cm

Es ist anzunehmen, dass das Maximum bei 459 mμ dem Kation AH_2^+, das Maximum bei 492 mμ der neutralen Form *AH* und das Maximum bei 537 mμ der alkalischen Form A^- zuzuschreiben ist, wobei AH_2^+ zu Form (I) analog ist, *AH* zu Form (II) und A^- zu Form (IV). Ferner kann angenommen werden, dass die Formen AH_2^+, *AH* und A^-, die als stets im Gleichgewicht miteinander stehend zu betrachten sind, bei einem pH von beispielsweise 6 im Dunkeln allmählich in eine neue Form *BH* mit Absorptionsmaximum bei 372 mμ, übergehen. Im Licht wird diese Form wieder in das Gleichgewichtsgemisch von AH_2^+, *AH* und A^- zurückverwandelt:

$$\underset{459\ m\mu}{AH_2^+} \underset{+H^+}{\overset{-H^+}{\rightleftharpoons}} \underset{492\ m\mu}{AH} \underset{+H^+}{\overset{-H^+}{\rightleftharpoons}} \underset{537\ m\mu}{A^-} \qquad BH\ (372\ m\mu) \quad \overset{h\nu}{\uparrow\downarrow} \qquad (1)$$

Wird die betrachtete Lösung vom pH 6, nachdem sie im Dunkeln gestanden hat und somit vorwiegend die Form *BH* enthält, angesäuert, so tritt unmittelbar danach keine Änderung des Spektrums auf, allmählich verschwindet jedoch die Bande bei 372 mμ und das für die Form AH_2^+ charakteristische Spektrum erscheint. Das im Dunkeln im Verlauf einiger Stunden sich einstellende Gleichgewicht zwischen *BH* und AH_2^+ *AH* und A^- steht somit in stark saurer Lösung ganz auf der Seite von AH_2^+, bei pH 6 auf der Seite von *BH*. Wird eine Lösung, die vorwiegend die Form *BH* enthält, alkalisch gemacht, so wird unmittelbar danach oberhalb pH 7 eine Verschiebung des Maximums nach längeren Wellen beobachtet (bei pH 9 liegt es bei 435 mμ) und eine Verbreiterung der Bande festgestellt, was offenbar darauf beruht, dass oberhalb pH 7 mehrere zu *BH* konjugierte Basen gebildet wer-

[11] Wie von BAYER[5] nachgewiesen werden konnte ist in diesen Komplexen das H-Atom der OH-Gruppe in 3′ durch ein Metallatom ersetzt, das mit dem O-Atom in 4′ eine Chelatbrücke bildet. Bei kovalenter Schreibweise der Bindung zwischen Metallatom und O-Atom in 4, ergibt sich eine Grenzstruktur, die an diesem O-Atom eine positive Ladung trägt; durch Vertauschen von Einfach- und Doppelbindungen geht sie in eine Grenzstruktur über, in der diese Ladung am O-Atom in 7 sitzt. Die beiden Grenzstrukturen liefern wie (IVa) und (IVb) einen je ungefähr gleich grossen Beitrag zum Grundzustand des Moleküls.

[12] R. WILLSTÄTTER, Liebigs Ann. *412*, 234 (1917).

[13] T. TEORELL und E. STENHAGEN, Biochem. Z. *299*, 416 (1938).

den. Das Spektrum bleibt dann, auch nach tagelangem Stehen, unverändert, und auch beim Belichten tritt die für die Form A^- charakteristische Absorptionsbande nicht auf. In einer Lösung, die aus einer Lösung von (VI) nach Zugabe der zur Bildung von A^- nötigen Laugenmenge erhalten wird, lässt sich dagegen nach einigen Tagen eine Umwandlung in BH bzw. in die zu BH konjugierten Basen nachweisen. Im alkalischen Medium stellt sich also das Gleichgewicht zwischen BH und den zu BH konjugierten Basen einerseits und AH_2^+, AH, A^- andererseits nur sehr langsam ein und steht ganz auf der Seite von BH und von den zu BH konjugierten Basen; die photochemische Rückbildung von A^- gelingt im alkalischen Medium nicht.

Um zu bestätigen, dass die Verbindung (VI) im sauren Medium als Kation AH_2^+, nach der Laugenzugabe von etwa pH 8 an als Anion A^- vorliegt, wurde die Wanderung im elektrischen Feld untersucht. Bei pH 2 wandern die farbigen Ionen zur Kathode, bei pH 8,7 zur Anode.

Zur Feststellung der Acidität von AH_2^+ und AH wurde die Verbindung (VI) mit $n/100$ NaOH schnell titriert. Jeder der durch Kreise markierten Punkte der ausgezogenen Titrationskurve in Abbildung 2 wurde so erhalten, dass man je 15 mg des Farbstoffs in 10 ml Methanol schnell löste, 90 ml Wasser und die durch den Abszissenwert des interessierenden Punktes gegebene Laugenmenge zugab, und den pH bestimmte. Es trat nach Zugabe von einem Äquivalent Lauge und ebenso nach Zugabe von zwei Äquivalenten je ein Sprung in der Titrationskurve auf. Die Feststellung von KLAGES[9], dass man bei Alkalizusatz zu der Lösung des Oxonium-Ions AH_2^+ unter Überspringen der Stufe AH durch Abgabe von zwei Protonen direkt zum Anion A^- gelangt, kann somit in Übereinstimmung mit dem oben erwähnten spektroskopischen Befund nicht bestätigt werden. Man erkennt, dass die Substanz im Bereich zwischen pH 5 und 7 vorwiegend in der Form AH vorliegt. Aus dem nach Zugabe von 1/2 bzw. 3/2 Äquivalenten Lauge erreichten pH-Wert ergeben sich für die Dissoziationskonstanten der Säuren AH_2^+ und AH die Werte

$$K_{AH_2^+} = \frac{[AH]\,[H^+]}{[AH_2^+]} = 4{,}6 \cdot 10^{-5}\ \text{Mol/l} \qquad (2)$$

$$K_{AH} = \frac{[A^-]\,[H^+]}{[AH]} = 3{,}2 \cdot 10^{-8}\ \text{Mol/l} \qquad (3)$$

Bei der Titration unter üblichen Bedingungen tritt nur *ein* Sprung in der Titrationskurve auf, und zwar nach Zugabe von einem Laugenäquivalent, und bei weiterer Laugenzugabe steigt die Titrationskurve relativ steil an (gestrichelte Kurve in Abb. 2). In diesem Fall hat die im Verlauf der Titration gebildete Form AH Zeit, in die Dunkelform BH überzugehen, die bei weiterem Alkalizusatz nicht mehr in das Anion A^- verwandelt wird, sondern nach und nach in die zu BH konjugierten Basen übergeht.

Um zu einer weiteren Begründung des angenommenen Reaktionsverlaufs (1) zu gelangen, wurden die zeitlichen Veränderungen der Absorptionsspektren im Dunkeln und nach dem Belichten näher untersucht. Abbildung 3 zeigt das Absorptionsspektrum, welches wenige Minuten nach dem Zusammengeben der sauren Farbstofflösung mit einem Puffer vom pH 6,5 erreicht wird (Kurve 1), sowie die Spektren, die 20 min bzw. 5 h später erhalten werden, falls man die Lösung in der Zwischenzeit im Dunkeln stehen lässt (Kurve 2 bzw. 3). Kurve 4 gibt das Spektrum der Lösung, die 5 h im Dunkeln gestanden hatte, nach 5minutigem Bestrahlen mit einer Hg-Spektrallampe wieder.

Es ist zu erkennen, dass alle Kurven durch einen gemeinsamen Punkt bei 423 mμ gehen. Das Vorhandensein eines isosbestischen Punktes bestätigt die Annahme, dass neben den Formen AH_2^+, AH und A^-, die wie erwähnt als stets im Gleichgewicht miteinander stehend zu betrachten sind und bei gegebenem pH somit

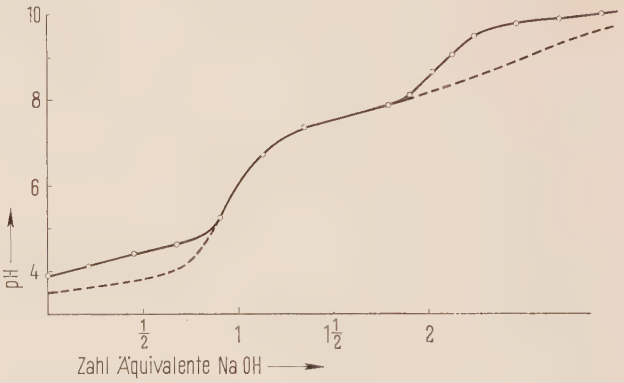


Abb. 2: Titrationskurve von Farbstoff VI. Abszisse: pro Mol Farbstoff zugegebene Zahl Mole Lauge (n/100 NaOH in Gemisch von Wasser und 10% Methanol). Ordinate: pH. Ausgezogene Kurve (Kreise): pH-Messung sofort nach Mischen der sauren Farbstofflösung mit dem Puffer. Gestrichelte Kurve: pH-Messung nach Gleichgewichtseinstellung

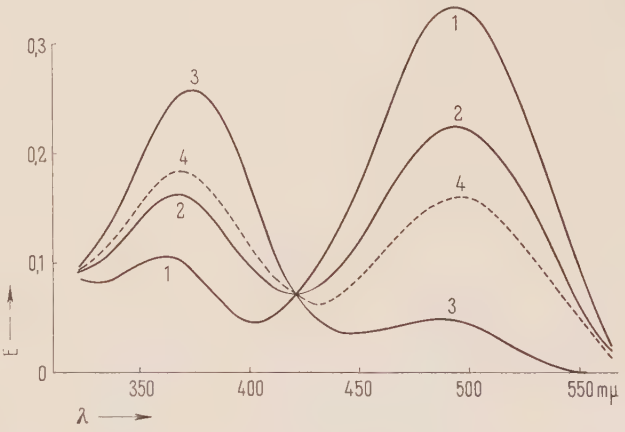


Abb. 3: Absorptionsspektrum des Farbstoffs VI bei pH 6,5. Kurve 1: sofort nach Mischen der sauren Farbstofflösung mit dem Puffer. Kurve 2: 20 min später als Kurve 1. Kurve 3: 5 h später als Kurve 1. Kurve 4: nach Belichten der Lösung Kurve 3
Konzentration $6{,}9 \cdot 10^{-6}$ Mol/l, Schichtdicke 2 cm

in stets gleichbleibendem Konzentrationsverhältnis auftreten, nur die Form BH an der Absorptionsänderung im Dunkeln und bei der anschliessenden Belichtung beteiligt ist.

Wiederholt man diese Versuche bei einem anderen pH-Wert zwischen 3 und 7, so erscheint wiederum deutlich ein isosbestischer Punkt; die Lage dieses Punktes hängt wie zu erwarten vom pH ab, da das Verhältnis der Konzentrationen von AH_2^+, AH und A^- pH-abhängig ist; man findet, dass der isosbestische Punkt jeweils an der Stelle liegt, wo man ihn auf Grund der Absorptionsspektren der beteiligten Formen AH_2^+, AH, BH und der Dissoziationskonstanten (2) und (3) zu erwarten hat. Auch oberhalb pH 7, also in dem Bereich, wo neben BH zu BH konjugierte Basen auftreten, wird ein isosbestischer Punkt erwartet, da bei gegebenem pH BH und die konjugierten Basen in konstantem Konzentrationsverhältnis auftreten. Ein solcher Punkt wird auch gefunden und liegt beispielsweise bei pH 8,6 bei 475 mμ.

2. Dunkelgleichgewicht und Kinetik der Dunkelreaktion. Wird eine saure Farbstofflösung mit einem Puffer von bestimmtem pH gemischt, so findet nach dem Vorangehenden im Dunkeln eine teilweise Umwandlung der Formen AH_2^+, AH und A^- in die Form BH (bzw. in die zu BH konjugierten Basen) statt und es stellt sich allmählich ein Gleichgewicht zwischen diesen Formen ein. Abbildung 4 zeigt für verschiedene pH-Werte die Extinktion E der Lösung für Licht der Wellenlänge 460 mμ in Abhängigkeit von der Zeit t nach Zugabe des Puffers. Alle Kurven beziehen sich auf gleiche Einwaagekonzentrationen ($5{,}7 \cdot 10^{-6}$ Mol/l) und Schichtdicke (2 cm). Die gewählte Wellenlänge liegt an der Stelle des Absorptionsmaximums von AH_2^+ und die Extinktion nimmt daher vom Anfangswert E_0 beginnend mit der Zeit ab und erreicht einen Endwert E_∞. Im pH-Bereich 5 bis 7, also im Bereich, wo nach (2) und (3) AH_2^+ und A^- neben AH zu vernachlässigen

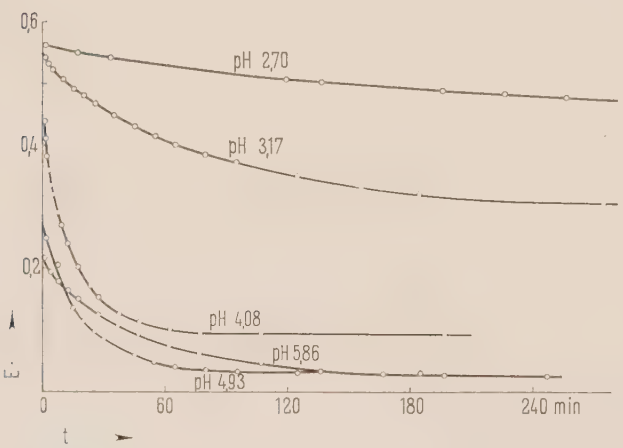


Abb. 4: E (Extinktion bei 460 mμ) in Abhängigkeit von t (Zeit nach Mischen der sauren Farbstofflösung mit dem Puffer) für verschiedene pH-Werte. Bei 460 mμ absorbieren AH_2^+ und AH stark, BH schwach

sind, ist der erreichte Endwert E_∞ und somit auch das Verhältnis $[AH]/[BH]$ konstant. Unterhalb pH 5 ist E_∞ um so grösser (also der Anteil an BH zur Gesamtkonzentration um so kleiner) je tiefer das pH ist. Aus den Werten von E_0 und E_∞ kann $[BH]$ und damit die Lage des Gleichgewichts bestimmt werden (Es ist

$$\frac{E_\infty - E_{BH}}{E_0 - E_{BH}} = \frac{C_0 - [BH]}{C_0},$$

wobei C_0 die Einwaagekonzentration an Farbstoff darstellt und $E_{BH} = 0{,}007$ die Extinktion ist, die vorhanden wäre, wenn die gesamte Substanz in der Form BH vorliegen würde). Es ergibt sich aus einer Reihe von Messungen, dass im untersuchten pH-Bereich 2 bis 7 das Verhältnis der im Dunkelgleichgewicht vorhandenen Konzentrationen $[AH]$ und $[BH]$ vom pH unabhängig ist. Daraus folgt, dass beim Übergang von AH zu BH keine Protonen frei oder gebunden werden, dass also BH wie AH ungeladen ist. Für die Gleichgewichtskonstante ergibt sich der Wert:

$$K = \frac{[BH]}{[AH]} = 13\,. \qquad (4)$$

Nach (2) und (4) ist $[BH]\,[H^+]/[AH_2^+] = 6 \cdot 10^{-4}$ Mol/l. Danach liegt bei einem pH unterhalb 3 das Gleichgewicht $AH_2^+ \rightleftarrows BH + H^+$ auf der Seite von AH_2^+, bei einem pH oberhalb 4 auf der Seite von BH; bei beiden pH-Werten liegt das Gleichgewicht $AH_2^+ \rightleftarrows AH + H^+$ nach (2) auf der Seite von AH_2^+. Bringen wir also die saure Farbstofflösung auf einen pH 4, so liegt der Farbstoff zunächst vorwiegend in der Form AH_2^+ vor, nach Einstellung des Dunkelgleichgewichts jedoch vorwiegend in der Form BH; es findet also während der Dunkelreaktion eine Umwandlung von AH_2^+ in BH unter Freiwerden von Protonen statt, und umgekehrt werden beim Belichten der Lösung Protonen entzogen. Tatsächlich zeigt sich, dass der pH-Wert einer frisch angesetzten ungepufferten Lösung nach dem Stehen im Dunkeln abnimmt und nach dem Belichten wieder ansteigt.

Wir gehen aus von der Annahme, dass bei der Dunkelreaktion eine Umwandlung von AH in BH stattfindet und dass die Geschwindigkeit der Reaktion $AH \rightarrow BH$ proportional $[AH]$ ist, die Geschwindigkeit der Rückreaktion $BH \rightarrow AH$ proportional $[BH]$. Somit ist

$$\frac{d\,[BH]}{dt} = k_{AH \rightarrow BH}\,[AH] - k_{BH \rightarrow AH}\,[BH] \qquad (5)$$

$$K = \frac{k_{AH \rightarrow BH}}{k_{BH \rightarrow AH}} = 13 \qquad (6)$$

Im Gleichgewicht ist $d[BH]/dt = 0$ und somit gilt wegen (5) und (4) die Beziehung (6). Ferner ist bei pH < 7

$$C_0 = [AH_2^+] + [AH] + [A^-] + [BH]. \qquad (7)$$

Da anzunehmen ist, dass sich das Gleichgewicht zwischen AH_2^+, AH und A^- sofort einstellt, ist nach (2) und (3)

$$[AH_2^+] + [AH] + [A^-] = a\,[AH] \qquad (8)$$

mit

$$a = \frac{[H^+]}{K_{AH_2^+}} + 1 + \frac{K_{AH}}{[H^+]} \qquad (9)$$

und damit nach (5), (7) und (8)

$$\frac{d[BH]}{dt} = k_{AH \to BH} \cdot \frac{C_0 - [BH]}{a} - k_{BH \to AH}\,[BH] \qquad (10)$$

Die integrierte Form von (10) lautet bei Berücksichtigung der Anfangsbedingung $[BH] = 0$ für $t = 0$

$$[BH]_t = [BH]_\infty - \frac{C_0}{1 + k_{BH \to AH}\, a / k_{AH \to BH}} \times e^{-(k_{BH \to AH} + k_{AH \to BH}/a)t} \qquad (11)$$

Darin ist $[BH]_t$ die Konzentration von BH zur Zeit t, $[BH]_\infty$ die Gleichgewichtskonzentration. Auf Grund dieser Beziehung ergibt sich für die Extinktion E_t der Lösung zur Zeit t die Beziehung

$$\log(E_t - E_\infty) = \text{const} - (k_{BH \to AH} + k_{AH \to BH}/a) \times (1/2{,}303) \cdot t \qquad (12)$$

falls E_∞ wiederum die Extinktion nach Einstellung des Dunkelgleichgewichts ist. Trägt man die Grösse $\log(E_t - E_\infty)$ gegen t auf, so müssen die Messpunkte auf einer Geraden liegen, falls der Ansatz zutrifft. Dies ist tatsächlich im untersuchten pH-Bereich 2 bis 7 der Fall. Aus der Steigung der Geraden kann die Grösse $(k_{BH \to AH} + k_{AH \to BH}/a)$ berechnet werden. Da bei festgelegtem pH-Wert der Zahlenwert der Grösse a nach (9), (2) und (3) gegeben ist und nach Gleichung (6) $k_{AH \to BH} = 13\, k_{BH \to AH}$ ist, kann daraus $k_{AH \to BH}$ ermittelt werden. In dieser Weise wurde $k_{AH \to BH}$ für eine Reihe von pH-Werten zwischen 2,7 und 7 ermittelt und festgestellt, dass in diesem Bereich

$$k_{AH \to BH} = \frac{\alpha}{\beta + 1/[H^+]} \quad \text{mit } \alpha = 2 \cdot 10^2\, l \cdot \text{Mol}^{-1}\,\text{sec}^{-1}$$
$$\beta = 2 \cdot 10^5\, \text{l} \cdot \text{Mol}^{-1} \qquad (13)$$

gesetzt werden kann.

Dieser Befund kann durch die Annahme gedeutet werden, dass die Reaktion $AH \to BH$ über ein Zwischenprodukt Z verläuft und dass die Geschwindigkeit der Reaktion $AH \to Z$ proportional der Wasserstoffionenkonzentration ist, während die Geschwindigkeit der Reaktion $Z \to BH$ von der Protonenkonzentration unabhängig ist:

$$AH \underset{H^+}{\overset{H^+}{\rightleftharpoons}} Z \longrightarrow BH \qquad (14)$$

Für den Fall, dass die Konzentration $[Z]$ des Zwischenproduktes gegenüber $[AH]$ vernachlässigt werden kann, ist für kleine Wasserstoffionenkonzentrationen der Schritt $AH \to Z$ geschwindigkeitsbestimmend ($k_{AH \to BH}$ proportional $[H^+]$), für grosse Wasserstoffionenkonzentrationen dagegen der Schritt $Z \to BH$ ($k_{AH \to BH}$ unabhängig von $[H^+]$).

Bei Vernachlässigung von $[Z]$ neben $[HA]$ kann $d[Z]/dt = 0$ gesetzt werden und es folgt somit, falls nur die Hinreaktion $AH \to BH$ betrachtet wird:

$$\frac{d[Z]}{dt} = k_{AH \to Z}^{H^+}\,[H^+]\,[AH] - k_{AH \to Z}^{H^+}\,[H^+]\,[Z] - k_{Z \to BH}\,[Z] = 0 \qquad (15)$$

Ferner ist:

$$\frac{d[BH]}{dt} = k_{Z \to BH}\,[Z] \qquad (16)$$

Andererseits gilt für die Reaktion $AH \to BH$

$$\frac{d[BH]}{dt} = k_{AH \to BH}\,[AH] \qquad (17)$$

Indem man $[Z]$ aus (15) in (16) einsetzt und mit (17) vergleicht ergibt sich:

$$k_{AH \to BH} = \frac{k_{AH \to Z}^{H^+}}{\frac{k_{Z \to AH}^{H^+}}{k_{Z \to BH}} + \frac{1}{[H^+]}} \qquad (18)$$

(18) stimmt mit (13) überein, falls gesetzt wird:

$$k_{AH \to Z}^{H^+} = 2 \cdot 10^2\, \text{l} \cdot \text{Mol}^{-1}\,\text{sec}^{-1}$$
$$\frac{k_{Z \to AH}^{H^+}}{k_{Z \to BH}} = 2 \cdot 10^5\, \text{l} \cdot \text{Mol}^{-1} \qquad (19)$$

Die betrachteten Geschwindigkeitskonstanten sind ferner verknüpft durch eine Beziehung, welche sich auf Grund der Überlegung ergibt, dass im Gleichgewicht Hin- und Rückreaktion gleich rasch erfolgen, dass also nach Erreichen des Dunkelgleichgewichts

$$k_{Z \to AH}^{H^+}\,[Z] = k_{AH \to Z}^{H^+}\,[AH]$$

und

$$k_{Z \to BH}\,[Z] = k_{BH \to Z}\,[BH]$$

und somit

$$\frac{[BH]}{[AH]} = K = \frac{k_{AH \to Z}^{H^+}\, k_{Z \to BH}}{k_{Z \to AH}^{H^+}\, k_{BH \to Z}}$$

ist. Es ist also

$$k_{BH \to Z} = \frac{1}{K} \cdot \frac{k_{Z \to AH}^{H^+}}{k_{Z \to BH}}\, k_{AH \to Z}^{H^+} = \frac{1}{13} \cdot \frac{1}{2 \cdot 10^5}\, 2 \cdot 10^2\,\text{sec}^{-1} = 7{,}7 \cdot 10^{-5}\,\text{sec}^{-1}$$

Im Vorangehenden wurde der zeitliche Verlauf der Bildung von BH bis zur Gleichgewichtseinstellung untersucht. Wird eine Lösung vom pH 5 bis 6 nach Einstellung des Dunkelgleichgewichts auf ein tieferes pH gebracht, so kann umgekehrt durch Messung der Extinktion in Abhängigkeit von der Zeit die Umwandlung von BH in AH_2^+ bis zum Gleichgewicht verfolgt werden. Für die Gleichgewichtskonstante ergibt sich wiederum der Wert (4), und man kann zeigen, dass an Stelle von (12) die Beziehung

$$\log(E_\infty - E_t) = \text{const} - (k_{BH \to AH} + k_{AH \to BH}/a) \times (1/2{,}303) \cdot t \qquad (20)$$

gilt. Der gemäss (20) zu erwartende lineare Zusammenhang von $\log(E_\infty - E_t)$ und t wird festgestellt. Die damit nach (20) und (6) für verschiedene pH-Werte sich ergebenden Werte von $k_{AH \to BH}$ stimmen mit den durch Gleichung (13) gegebenen Beträgen praktisch überein.

3. Lichtrückreaktion. Nach Abschnitt 1 geht bei der Belichtung der im Dunkelgleichgewicht sich befindenden Lösung die Form BH in AH_2^+, AH, A^- über. Die Zeit nach der bei gleichbleibender Lichtintensität ein bestimmter photochemischer Umsatz erreicht ist, ist im pH-Bereich unterhalb 4 pH-unabhängig, im pH-Bereich 6 bis 7 proportional $[H^+]$. So findet man, dass bei Belichtung einer Lösung unter konstanten Bedingungen (Quecksilberhöchstdrucklampe SP 500 W der Firma Philips, Abstand von der Küvette 30 cm, Schichtdicke 2 cm, Konzentration $6 \cdot 10^{-6}$ Mol/l) bei pH 2 bis 4 die Hälfte von BH nach 15 s umgesetzt wird, bei pH 5,3 nach 30 s, bei pH 6,3 nach 160 s, bei pH 7,3 nach 1500 s. Bei höherem pH ist, wie bereits in Abschnitt 1 erwähnt wurde, eine Lichtrückreaktion nicht mehr zu beobachten.

Nehmen wir an, dass durch Einstrahlen von Licht die Form BH in eine Form L verwandelt wird, die sich rasch entweder in BH zurückwandelt oder in das oben betrachtete Zwischenprodukt Z übergeht,

$$AH_2^+,\ AH,\ A^- \xleftarrow{H^+} Z \longrightarrow BH \qquad (21)$$

$$Z \xrightarrow{h\nu} L$$

so kann dieses Verhalten quantitativ gedeutet werden: Falls die Belichtungszeit gross ist gegen die Lebensdauer der Form L, stellt sich während der Belichtung ein stationärer Zustand ein, wobei die Konzentration von L konstant ist und Z aus L mit konstanter Geschwindigkeit $g = (d[Z]/dt)_{\text{Licht}}$ gebildet wird.

Bei grosser Wasserstoffionenkonzentration wird das photochemisch gebildete Z sofort durch die Reaktion $Z \xrightarrow{H^+} AH$ vernichtet, die Reaktion $Z \to BH$, also die Rückbildung von BH, kann vernachlässigt werden und die Geschwindigkeit der photochemischen Bildung von AH_2^+, AH, A^- ist somit vom pH unabhängig und sie besitzt den Wert g. Weiter folgt, dass bei kleiner Wasserstoffionenkonzentration die Reaktion $Z \to BH$ gegenüber $Z \xrightarrow{H^+} AH$ stark überwiegt; es stellt sich praktisch ein photostationärer Zustand ein, bei dem die Konzentration von Z konstant ist; die Geschwindigkeit der photochemischen Umwandlung von Z in AH und damit von BH in AH ist also in diesem Fall proportional $[H^+]$.

Bei Vernachlässigung der während der Belichtung allmählich einsetzenden Dunkelreaktion ist:

$$\frac{d(a[AH])}{dt} = k_{Z \xrightarrow{H^+} AH}\,[H^+]\,[Z] \qquad (22)$$

und

$$\frac{d[Z]}{dt} = g - k_{Z \xrightarrow{H^+} AH}\,[H^+]\,[Z] - k_{Z \to BH}\,[Z] \qquad (23)$$

Darin ist $a[AH]$ gemäss (8) die Summe der Konzentrationen von AH_2^+, AH und A^-. Wird wiederum, da $[Z]$ als klein gegenüber der Konzentrationen der übrigen Reaktionsteilnehmer zu betrachten ist, $d[Z]/dt = 0$ gesetzt, so folgt nach (22), (23) und (19)

$$\frac{d[AH]}{dt} = \frac{g}{a} \cdot \left(1 + \frac{k_{Z \to BH}}{k_{Z \xrightarrow{H^+} AH}\,[H^+]}\right)^{-1}$$

$$= \frac{g}{a}\left(1 + \frac{1}{2 \cdot 10^5\,[H^+]}\right)^{-1} \quad ([H^+] \text{ in Mol/l}) \qquad (24)$$

Die Zeit, nach der ein bestimmter Umsatz erreicht wird, ist umgekehrt proportional $d[AH]/dt$, also proportional $1 + 1/(2 \cdot 10^5\,[H^+])$ und somit bei pH 7,3 bzw. 6,3 bzw. 5,3 101mal bzw. 11mal bzw. 2mal so gross wie bei pH 4 oder tiefer als 4. Dies steht mit dem oben erwähnten Befund, dass die Hälfte des Umsatzes bei pH 7,3 bzw. 6,3 bzw. 5,3 100mal bzw. 11mal bzw. 2mal schneller erfolgt als bei pH 4 oder unterhalb 4 in guter Übereinstimmung und spricht für die Richtigkeit der zugrundegelegten Annahme über den Reaktionsverlauf.

Weiter zeigt sich, dass nur Licht, dessen Wellenlänge in den Bereich der Absorptionsbande der Form BH fällt, photochemisch wirksam ist, wie man auf Grund des angenommenen Reaktionsverlaufs zu erwarten hat.

Zur näheren Untersuchung des Reaktionsverlaufs kann die photochemische Umwandlung einer Lösung, die sich im Dunkelgleichgewicht befindet, mit Blitzlicht vorgenommen werden. Nach Schema (21) ist zu erwarten, dass unmittelbar nach dem Blitz die Konzentration von BH abnimmt und L entsteht. L verschwindet nach einer Reaktion erster Ordnung, indem es in Z und BH übergeht. Es ist

$$[L]_t = [L]_0\, e^{-(k_{L \to Z} + k_{L \to BH})\, t}$$

und die Halbwertszeit ist gleich

$$\tau = ln\ 2/(k_{L \to Z} + k_{L \to BH}) \qquad (25)$$

Die entstandene Form Z geht dann zum Teil in AH_2^+, AH, A^-, zum Zeil in BH über; nach längeren Zeiten stellt sich das Dunkelgleichgewicht wieder ein, indem sich die entstandene Menge der Formen AH_2^+, AH, A^- allmählich in BH zurückverwandelt. Wir vernachlässigen hier die nachträgliche Einstellung des Dunkelgleichgewichts und betrachten nur die zuerst genannten, gegenüber diesem Vorgang etwa 100mal rascher verlaufenden Vorgänge.

Nehmen wir an, dass die Vorgänge $Z \to BH$ und $Z \to AH$, AH_2^+, A^- schnell sind gegen die Vorgänge $L \to Z$ und $L \to BH$ und dass sich das Gleichgewicht zwischen den Formen AH_2^+, AH, A^- beliebig rasch einstellt, so folgt, dass die Halbwertszeiten für die Bildung von BH, AH_2^+, AH, A^- gleich sind der Halbwertszeit (25) für die Zersetzung von L.

Bei kleiner Protonenkonzentration (pH $\geqslant 6$) findet nach Schema (21) und Gleichung (19) nach dem Blitz im Dunkeln neben der Reaktion $L \rightarrow BH$ praktisch nur die Reaktion $L \rightarrow Z \rightarrow BH$ statt; die Konzentration von AH_2^+, AH, A^- ändert sich nicht und BH wird vollständig zurückgebildet.

Bei grosser Protonenkonzentration (pH $\leqslant 4$) findet nach Schema (21) und Gleichung (19) neben der Reaktion $L \rightarrow BH$ praktisch nur die Reaktion $L \rightarrow Z \xrightarrow{H^+} AH$, AH_2^+, A^- statt. Bezeichnen wir mit $[BH]_v$ bzw. $[BH]_n$ die Konzentration von BH vor bzw. unmittelbar nach dem Blitz, mit $[BH]_e$ die Konzentration in einem Zeitpunkt, in dem L praktisch verschwunden ist, so ist, wie man sich leicht überlegt,

$$\frac{[BH]_v - [BH]_e}{[BH]_e - [BH_n]} = \frac{k_{L\rightarrow Z}}{k_{L\rightarrow BH}} \quad (\mathrm{pH} \leqslant 4) \qquad (26)$$

Es wurde mit Blitzlicht der Wellenlänge 350–400 mμ angeregt[14] und die Extinktionsänderung für Licht untersucht, dessen Wellenlänge in den Bereich der Absorptionsbande von BH bzw. AH und AH_2^+ (370 mμ bzw. 490 mμ und 460 mμ) fällt. Es zeigte sich, dass unmittelbar nach dem Blitz im Bereich der Absorptionsbande von BH eine Extinktionsabnahme festzustellen ist, dass also die Konzentration von BH in weniger als 10^{-4} s (Blitzdauer) abnimmt. Das bestätigt die Annahme, dass die Form BH primär durch Licht umgewandelt wird.

Bei kleiner Wasserstoffionenkonzentration (pH 7; Abb. 5a) geht wie erwartet die Extinktion im Bereich der Absorptionsbande von BH nach einigen Sekunden asymptotisch wieder auf den ursprünglichen Wert zurück (Halbwertszeit $\tau = 1{,}4$ s) und im Bereich der Absorptionsbande von AH findet keine Extinktionsänderung statt.

Bei grosser Wasserstoffionenkonzentration (pH 3; Abb. 5b) nimmt erwartungsgemäss die Extinktion nach dem Blitz sowohl im Bereich der Absorptionsbande von BH als auch im Bereich der Bande von AH_2^+ zu und strebt asymptotisch einem Grenzwert entgegen. Die gesamte Extinktionszunahme nach dem Blitz ist im Bereich der Absorptionsbande von BH nur halb so gross wie die während des Blitzes erfolgende Extinktionsabnahme; somit ist wegen (26)

$$k_{L\rightarrow Z} \simeq k_{L\rightarrow BH}.$$

Die Halbwertszeit ist wie erwartet im Bereich beider Banden gleich gross; es ist $\tau = 0{,}8$ s und somit kann wegen (25) bei dem betrachteten pH

$$k_{L\rightarrow Z} + k_{L\rightarrow BH} \simeq \ln 2/0{,}8 \ \mathrm{sec}^{-1},$$

also

$$k_{L\rightarrow Z} \simeq k_{L\rightarrow BH} \simeq 0{,}4 \ \mathrm{sec}^{-1}$$

gesetzt werden.

Man findet ferner, dass bei 275 mμ und 225 mμ die Extinktion während des Blitzes sofort zunimmt und nach dem Blitz allmählich abnimmt und asymptotisch einem Endwert zustrebt (Abb. 5). Die Halbwertszeit τ dieses Abfalles besitzt denselben Wert bei beiden Wellenlängen wie die Halbwertszeit der Extinktionszunahme, welche beim selben pH im Bereich der Bande von BH oder AH festgestellt wird ($\tau = 0{,}8$ s bei pH 3, 1,4 s bei pH 7). Ein entsprechender Effekt war im übrigen Wellenlängenbereich zwischen 200 mμ und 800 mμ nicht festzustellen. Der Effekt ist offenbar der Form L zuzuschreiben, welche somit bei 275 mμ und bei 225 mμ je eine Absorptionsbande besitzt. Bei pH 3 geht nach Schema (21) die Form L zum Teil in die Form AH_2^+ über, welche bei 275 mμ eine schwache Bande aufweist, während BH bei dieser Wellenlänge

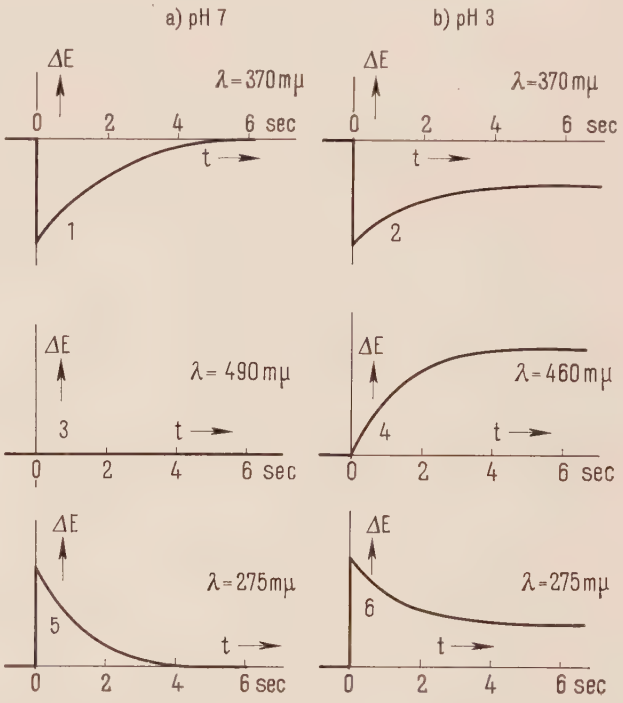


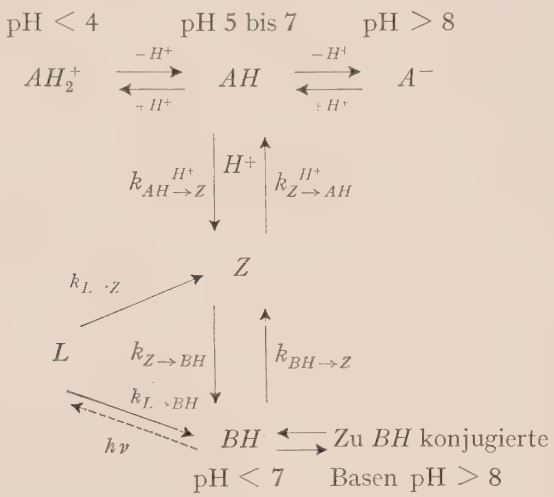
Abb. 5: Blitzlichtanregung einer Farbstofflösung im Dunkelgleichgewicht. Extinktionsänderung ΔE für verschiedene Wellenlängen λ des Messlichts gegen Zeit t. Blitz (Wellenlänge 350 bis 400 mμ) zur Zeit 0

Kurven 1 u. 2: λ = 370 mμ (Bereich der Absorptionsbande von BH)
Kurve 3: λ = 490 mμ (Bereich der Absorptionsbande von AH)
Kurve 4: λ = 460 mμ (Bereich der Absorptionsbande v. AH_2^+)
Kurven 5 u. 6: λ = 275 mμ (Bereich der Absorptionsbande von L)

[14] Die Vorversuche wurden in der von H. T. WITT *et al.* (H. T. WITT, R. MORAW und A. MÜLLER, Z. physik. Chemie, Neue Folge *20*, 193 (1959)) entwickelten Blitzlichtapparatur vorgenommen. Wir sind Herrn Dozent Dr. WITT für die Freundlichkeit, seine Apparatur benutzen zu dürfen, sehr dankbar. – Für die Messungen wurde das Spektralphotometer MQ4 von Zeiss benutzt, wobei jedoch der Ausgang des Photomultipliers an einen Oszillographen angeschlossen wurde. Zur Blitzerzeugung wurde die Blitzlampe OOG 63 der Vakuumtechnik GmbH. verwendet. Herrn Dipl.-Phys. F. P. SCHÄFER sind wir für die Ratschläge beim Aufbau der Anordnung und bei den Messungen zu grossem Dank verpflichtet.

viel schwächer absorbiert; der Endwert der Extinktion ist daher bei 275 mμ grösser als der Anfangswert vor dem Blitz. Bei pH 7 geht *L* vollständig in *BH* über, der Endwert der Extinktion stimmt daher hier mit dem Anfangswert vor dem Blitz überein.

4. Überblick. Nach dem Vorangehenden kann das Verhalten von VI in methanolisch wässeriger Lösung durch das Schema



gedeutet werden. Da die Einstellung des Gleichgewichts zwischen AH_2^+, AH, A^- so schnell erfolgt, dass dieser Vorgang kinetisch nicht verfolgt werden konnte, ist auf Grund der vorliegenden Untersuchung nicht zu entscheiden, über welche dieser Formen das Zwischenprodukt *Z* gebildet wird. Es kann nicht entschieden werden zwischen der Möglichkeit, dass AH in Z übergeht mit einer Geschwindigkeit $k_{AH\rightarrow Z}^{H^+}[H^+][AH]$, die proportional $[H^+]$ ist, und der Möglichkeit, dass Z aus AH^+ gebildet wird mit der Geschwindigkeit

$$k_{AH\rightarrow Z}^{H^+}[H^+] \cdot K_{H_2A^+} \frac{[H_2A^+]}{[H^+]} = k_{AH\rightarrow Z}^{H^+} K_{H_2A^+} [H_2A^+],$$

welche von der Protonenkonzentration nicht abhängt.

Über die Ergebnisse von Versuchen zur Ermittlung der chemischen Struktur der Formen *BH*, *Z* und *L* wird an anderer Stelle berichtet.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Verband der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Summary

The anthocyanidin investigated here exists below pH 4 as a cation AH_2^+ (wave length of absorption maximum $\lambda_{max} = 459$ mμ), between pH 5 and 7 in the neutral form AH ($\lambda_{max} = 492$ mμ) and above pH 8 as an anion A^- ($\lambda_{max} = 537$ mμ). At pH 5 the freshly dissolved substance is partially converted into a colourless form BH ($\lambda_{max} = 372$ mμ) and a chemical equilibrium between AH and BH is reached within 1 h. A kinetic study of the process of formation of BH shows that an intermediate product Z is formed. This process can be reversed by light exposure. It can be concluded from a kinetic investigation by using flash light that BH is transformed by the absorbing light into a new substance L ($\lambda_{max} \simeq 275$ mμ and 225 mμ), and L changes partially into BH, partially into Z, which itself is transformed partially into AH_2^+, AH, A^-, partially into BH. The reaction $Z \rightarrow AH$, AH_2^+, A^- is proportional to the concentration of protons $[H^+]$, the reaction $Z \rightarrow BH$ independent of $[H^+]$. Thus a photochemical production of AH_2^+, AH, A^- from BH is readily obtained in the presence of H^+ and not obtained in the absence of H^+.

A View of Progress in the Chemistry of Indole Alkaloids*

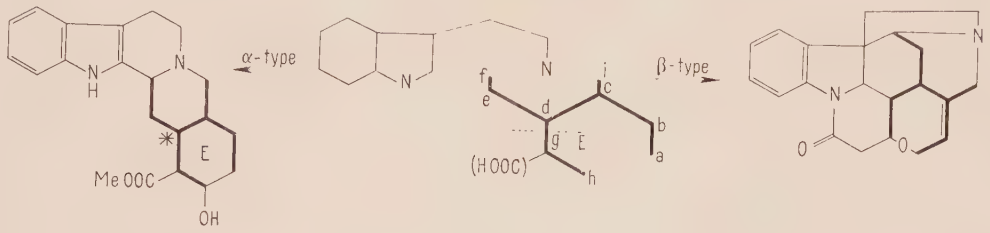
By E. SCHLITTLER and W. I. TAYLOR**

The last decade has been witness to an accelerated development in the successful structural investigation of indole alkaloids. The beginning of this period coincided roughly with the availability of accurate and trouble free infrared and ultraviolet spectrophotometers, whose intelligent use has made an essential contribution to the remarkable advances realised. Credit is also due to analytical methods: Column chromatography (although not a new tool) is now universally used along with paper chromatography and countercurrent distribution for the isolation, separation, and purification of natural products and their derivatives. Recently a new tool, nuclear magnetic resonance spectroscopy, has been applied to some of these problems and in due course when more experience will be gained, structural studies will benefit accordingly. Finally there is the well known method for the determination of structure by X-ray crystallographic analysis which requires a single suitable crystal. This technique can now compete on favorable terms with degradative work, thanks to electronic computers which solve the necessary Fourier syntheses at an almost incredible speed. These dramatic advances in instrumentation and analytical techniques merely serve to shorten the labors of the researcher, who would in actual fact not profit very much unless he would apply to his problems all the consequences of modern organic theory.

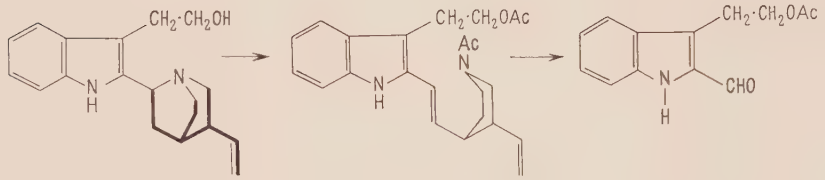
* This essay reflects the authors' approach to this subject. Only the major theme is developed but certain ideas buried in text may act as catalysts for further thought.

** Research Department, CIBA Pharmaceutical Products Inc., Summit (N. J.).

In addition to a general stimulus given by such perfected equipment to natural product chemistry, indole alkaloid chemistry derived specific profit from the isolation of reserpine[1] from *Rauwolfia serpentina* in the early fifties. In spite of the fact that reserpine did not offer any major structural problems (apart from its stereochemistry), the recognition of its valuable therapeutic properties must have acted as a catalyst for the investigation of indole bases. Evidence for this lies in a notable synthesis of the alkaloid[2] and in the interest which many pharmaceutical houses now take in plant chemistry.



(I) (II) (III)



(IV) (V) (VI)

Ten years ago the greater number of indoles and indolines could be divided into two formal classes, α-condensed systems e.g. yohimbine (I) and β-condensed systems[3] such as strychnine (III). Much of the work of the fifties has been devoted to the elucidation of the complete structures and relative stereochemistry of the α-type compounds, that is, known and new yohimbine isomers, ring E open and ring E oxygen heterocyclic bases. The determination of absolute stereochemistry of many of the indoles followed as a study in its own right as well as a corollary to work then being done, in the terpenoids and steroids. It should be pointed out, however, that with the exception of strychnine[4], the absolute stereochemistry of none of the dihydroindoles has yet been determined.

Examination of all this data has led two widely separated groups[5a] to suggest that thereis a common stereochemical denominator among these bases which betrays a common biosynthetic origin[5b]. That centre (C_{15} of yohimbine (I)) is marked with an asterik. Experimental work to test this hypothesis among the indoles has been successful and no exceptions have been found so far[6].

In the late forties Woodward[7] put forward a chemically plausible biogenesis for strychnine, the essential element of which involved the 3:4-ring fission of dopa or its equivalent. This fragment plus one carbon (carbon i) is shown in heavy type in (II), and in the other formulae in this essay. This idea of fission was to represent a real step forward in our understanding of the interrelationships between many indole classes. Woodward's idea was used directly a short time later in a rationalisation of the structure of the isoquinoline alkaloid emetine[8] and in solving the structure of the unusual base cinchonamine[9]. Because only a very small amount of cinchonamine was available all experiments were first carried out on a micro scale, the reaction products being examined spectrophotometrically. The key reaction turned out to be acetylation, the product was an O,N-diacetyl derivative (IR and Pk_a) which possessed a 2-vinyl indole chromophore (UV). This result, along with use of the Woodward concept, led to consideration of structure (IV) for cinchonamine and (V) for the diacetyl derivative which was confirmed by oxidation to the readily synthesisable (VI). The significance of cinchonamine as a link between indole and Cinchona bases was now obvious and bore out a conclusion recognised intuitively by Robinson[10] some years earlier.

[1] J. M. Müller, E. Schlittler, and H. J. Bein, Exper. *8*, 338 (1952).

[2] R. B. Woodward, F. E. Bader, H. Bickel, A. J. Frey, and R. W. Kierstead, Tetrahedron *2*, 1 (1958).

[3] For the use of these terms see R. Robinson, *The Structural Relations of Natural Products* (Oxford at the Clarendon Press, 1955), p. 100.

[4] By an X-ray method, A. F. Peerdeman, Acta cryst. *9*, 824 (1956). No chemical proof is yet available.

[5] *a*) A. K. Bose, B. G. Chatterjee, and R. S. Iyer, Ind. J. Pharm. *18*, 185 (1956); *b*) E. Wenkert, E. W. Robb, and N. V. Bringi, J. Amer. chem. Soc. *79*, 6570 (1957).

[6] E. Wenkert and N. V. Bringi, J. Amer. chem. Soc. *81*, 1474 (1959), and earlier papers.

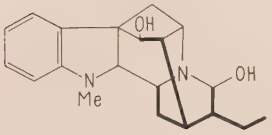
[7] R. B. Woodward, Nature *162*, 155 (1948).

[8] R. Robinson, Nature *162*, 524 (1948).

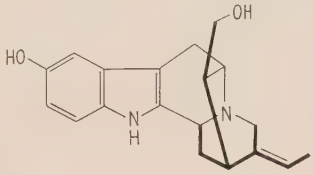
[9] R. Goutarel, M.-M. Janot, V. Prelog and, W. I. Taylor, Helv. chim. Acta *33*, 150 (1950). – W. I. Taylor, Helv. chim. Acta *33*, 164 (1950).

[10] H. T. Openshaw and R. Robinson, Nature *157*, 438 (1946).

A similar consideration of this fragment pictured in (II) led to a proposal and proof the structure of ajmaline[11] (VII), to which the Oxford school had contributed most of the experimental work[12]. The later derivation of a plausible structure for sarpagine[13] (VIII) was almost a matter of course.

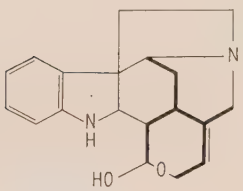


(VII)

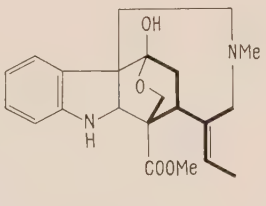


(VIII)

In another development the chemistry of the Curare alkaloids, for the most part bis-quaternary compounds and a major puzzle for many years, has suddenly become understandable. Two findings were crucial in bringing about this sudden transition from difficult experimentation to rational synthesis[14]. One was the recognition of Caracurine VII as the Wieland-Gumlich aldehyde (IX)[15] and the other was the identification of the chromophoric moiety of C-fluorocurarine with that of a β-anilino-α,β-unsaturated aldehyde[16]. Many of the Curare alkaloids have turned out to be essentially derivatives of the Wieland-Gumlich aldehyde, the biologically interesting ones being in the bis-quaternary class. Other alkaloids have turned out to be related to this aldehyde, e.g. strychnospermine, spermostrychnine, diaboline (Strychnos), akuammicine (Picralima), and very recently echitamine (X)[17] (Alstonia). Since strychnine is readily available, the importance of the Wieland-Gumlich aldehyde[18] (IX) for the synthetic investigation of alkaloids is clear.



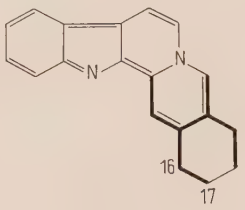
(IX)



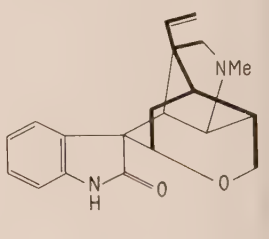
(X)

Examples of 'dimeric' alkaloids are becoming recognised more frequently and among others there are geissospermine (indole and dihydroindole)[19], serpentinine (indole and serpentine)[20], and quite a number of Voacanga and Vinca alkaloids. The nature of the linkages in the latter cases has not yet been elucidated.

By the mid-fifties one had learnt how to handle the oxindole alkaloids, principally those from the genus Mitragyna and Uncaria (more recently also from Pseudocinchona) and successful structural work was based on a combination of spectrophotometric analysis plus the recognition of the formulae of potash fusion and dehydrogenation products[21]. None of these alkaloids has been synthesised, although partial or total routes appear on the surface to be simple[22]. One of these alkaloids, mitragynine[23], has a 4-methoxy group and was the only natural product so substituted until the discovery of psilocybine, the phosphoric ester of 4-hydroxydimethyltryptamine[24], the hallucinogen of Mexican mushrooms. The most defiant of the oxindole alkaloids was the pentacyclic base, gelsemine, and its structure was bound to be interesting because it had been felt that there should be some relationship to co-occurring sempervirine (XI). A brilliant piece of inductive and degradative work led to its constitution simultaneously with the same solution by X-ray work[25]. The presence in (XII) of the same fragment as in (II) and (XI) is clearly indicated.



(XI)



(XII)

[11] R. B. Woodward and K. Schenker, Angew. Chem. *68*, 13 (1956). We have shown (in preparation) that the stereochemistry of ajmaline as well as sarpagine (VIII) is as indicated in the above formulae, i. e. in agreement with the postulate of Ref. [6].

[12] F. A. L. Anet, D. Chakravarti, R. Robinson, and E. Schlittler, J. chem. Soc. *1954*, 1242.

[13] W. Arnold, W. v. Philipsborn, H. Schmid, and P. Karrer, Helv. chim. Acta *40*, 705 (1957). – D. Stauffacher, A. Hofmann, and E. Seebeck, Helv. chim. Acta *40*, 1866 (1957).

[14] P. Karrer, H. Schmid, K. Bernauer, F. Berlage, and W. v. Philipsborn, Angew. Chem. *70*, 644 (1958). For a review see K. Bernauer, Fortschr. Chem. org. Naturst. *17*, 184 (1959).

[15] K. Bernauer, S. K. Pavaranam, W. v. Philipsborn, H. Schmid, and P. Karrer, Helv. chim. Acta *41*, 1405 (1958).

[16] H. Fritz, E. Besch, and T. Wieland, Liebigs Ann. *617*, 166 (1958). – W. v. Philipsborn, H. Meyer, H. Schmid, and P. Karrer, Helv. chim. Acta *41*, 1257 (1958).

[17] H. Conroy, Tetrahedron Letters No. 6, *1* (1960).

[18] H. Wieland and W. Gumlich, Liebigs Ann. *494*, 191 (1932). – H. Wieland and K. Kaziro, Liebigs Ann. *506*, 60 (1933).

[19] K. Wiesner, W. Rideout, and J. A. Manson, Exper. *9*, 369 (1953).

[20] Unpublished observations of Dr. S. Uyeo.

[21] Mitragyna Alkaloids by J. D. Loudon, *Recent Work on Naturally Occurring Nitrogen Heterocyclics*, Chemical Society Special Publication No. 3, p. 14 (1955).

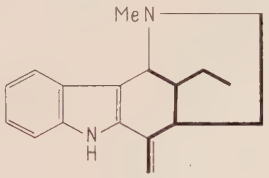
[22] This adjective is used advisedly since paper routes often do not work, examples are illustrated in early approaches to the total synthesis of yohimbine and especially colchicine.

[23] J. W. Cook, J. D. Loudon, and P. McCloskey, J. chem. Soc. *1952*, 3904.

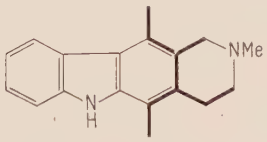
[24] A. Hofmann, R. Heim, A. Brack, and H. Kobel, Exper. *14*, 107 (1958). – A. Hofmann, A. Frey, H. Ott, T. H. Petrzilka, and F. Troxler, Exper. *14*, 397 (1958).

[25] F. M. Lovell, R. Pepinsky, and A. J. C. Wilson, Tetrahedron Letters No. *4*, 1 (1959), H. Conroy and, J. K. Chakrabarti, Tetrahedron Letters No. *4*, 6 (1959).

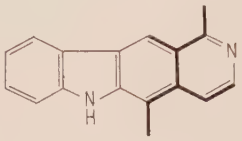
Until a year ago it was almost axiomatic that a tryptamine residue should be discernable whenever biogenetic arguments were used in formulating working hypothesis for structures of indole or indoline alkaloids. It came as somewhat of a shock to find that the Aspidosperma plants gave rise to a group of bases e.g. uleine (XIII)[26], ellipticine (XIV)[27], and olivacine (XV)[28] in which the number of carbons between the indole β-position and the basic nitrogen was not two. In these compounds however, there was discerned[27] the structural element which has been common to all the previous alkaloids discussed.



(XIII)



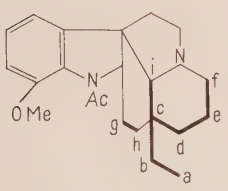
(XIV)



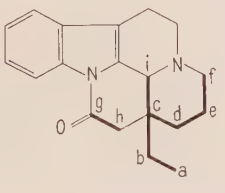
(XV)

Are these substances being derived from the fragment (II), ammonia and indole, or from tryptamine followed by a loss of two carbons?

Recently the structures of some alkaloids have been deduced in which the fragment (II) can only be recognised if rearrangement reactions are permitted. One of these bases is aspidospermine isolated from plants of the same genus as yield the above carbazole derivatives. It is of some interest since outside of the chromophoric moiety, it has resisted chemical examination. Now it has fallen to the X-ray technique[29] and its constitution (XVI) is consonant with the hard won chemical evidence[30]. A possible derivation from (II) would involve at some stage bond fission between carbon atoms d and g and the position of the atoms after recombination is shown in (XVI)[31]. The position of the carbomethoxy group in some newly isolated aspidosperma bases[32] accordingly will be, on this basis, on carbon g[33].



(XVI)



(XVII)

From *Hunteria eburnea* we have recently isolated and proved the structures of a group of interconvertible bases[34] and the key compound, eburnamonine (XVII), the indole equivalent of aspidospermine, has been synthesised in a simple fashion from 4-ethyl-4-dichloromethyl cyclohexadienone, readily prepared from *p*-ethylphenol[35]. This suggests an alternative biogenesis[35, 36] for these compounds which might be considered to proceed from say tyrosine (or equivalent), formate, and tryptamine[37], but then this is a special hypothesis apparently not fitting into the above scheme. One way out of this difficulty would be to assume that the formation of (II), proceeds from an aromatic amino acid via an acid catalysed rearrangement of a first formed cyclohexadienone! Such a cyclohexadienone derived from 3:4-dihydroxyphenylalanine could function just as well as prephenic acids (see below) for the biosynthesis of indole alkaloids.

Three years ago we had examined in detail the alkaloids of *Tabernanthe iboga* and from the then known chemistry it was clear that their constitution had to be unusual. Although they were indoles they did not readily give characteristic dehydrogenation products. However, under certain experimental conditions small yields of two selenium dehydrogenation products were obtained, from which it was possible to arrive at structures for the parent bases[38]. These were so unfamiliar looking that it was considered desirable to obtain an unequivocal proof, especially of the presence of the seven membered ring C first proposed by Janot *et al.* Using ibogaine (XVIII) for illustration, a method was devised which took advantage of the ease of formation of pseudo-indoxyls in this series to cut the molecule in

[26] G. Büchi and E. W. Warnhoff, J. Amer. chem. Soc. *81*, 4433 (1959).

[27] R. B. Woodward, G. A. Iacobucci, and F. A. Hochstein, J. Amer. chem. Soc. *81*, 4434 (1959).

[28] G. B. Marini-Bettólo and J. Schmutz, Helv. chim. Acta *42*, 2146 (1959).

[29] J. F. D. Mills and S. C. Nyburg, Tetrahedron Letters No. 11, 1 (1959).

[30] H. Conroy, P. R. Brook, and Y. Amiel, Tetrahedron Letters No. *11*, (1959) and earlier references.

[31] In Wenkert's biogenetic scheme [Exper. *15*, 165 (1959)] a similar fission has to occur if it is to account for the quaternary C-Et group of aspidospermine.

[32] B. Gilbert, L. D. Antonaccio, A. A. P. G. Archer, and C. Djerassi, Exper. *16*, 61 (1960).

[33] Analogy would suggest this anyway, since the carbomethoxy group occupies an equivalent position in such compounds as voacangine, akuammicine, and echitamine.

[34] M. F. Bartlett, W. I. Taylor, and Raymond-Hamet, C. R. Acad. Sci., Paris *249*, 1259 (1959).

[35] M. F. Bartlett and W. I. Taylor, Tetrahedron Letters No. *20*, 20 (1959).

[36] R. Robinson, Tetrahedron Letters No. *18*, 14 (1959).

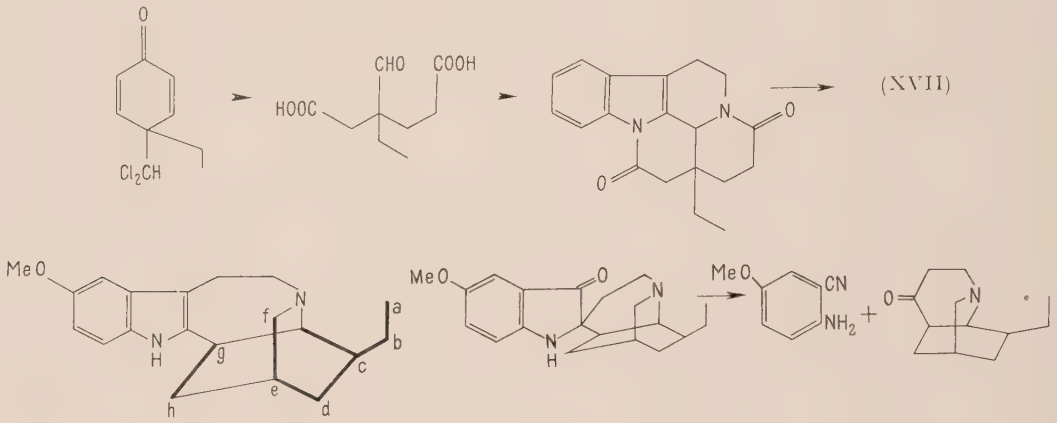
[37] On this basis the carbomethoxy group in the alkaloids ref. [32], could be on g or the ethyl side chain.

[38] W. I. Taylor, J. Amer. chem. Soc. *79*, 3298 (1957).

two, with a pair of chemical scissors as it were[39] (XIX →XX and XXI). At the time when this work was being carried out biogenetic considerations were of little help, but once the structure was established with certainty one could certainly try to fit it into current ideas. Proceeding in the same way as for aspidospermine, it could have been formed from the same fragments [40] as was involved for that alkaloid, although once again an alternative seems to be possible[41].

tions, the genesis of all these alkaloids might well be from an open chain $C_6 + C_1$ unit (carbons $a \rightarrow f$, i in II), and a C_3 unit (carbons g and h in II plus the bracketed carboxyl)[43].

The contribution of the organic chemist to the problem of biogenesis has been in the determination of the detailed structures of classes of natural products and the recognition in them of repetitive units. The indole alkaloids discussed above are no exception to this ap-



(XVIII) (XIX) (XX) (XXI)

In this article we have not been concerned with specific compounds from which the hydroaromatic fragment in (II) might arise. In early speculations concerning alkaloid biogenesis (WINTERSTEIN, BARGER, ROBINSON, SCHÖPF) amino acids were regarded as precursors so that for yohimbine, tryptophan plus tyrosine or dopa were logical choices. In his facile synthesis of an aromatic analogue of yohimbine, HAHN[42] appeared to strengthen this idea. Fission of ring E (Woodward) then enabled the other alkaloids to be incorporated into the general scheme. Nevertheless the origin of the carboxy group in ring E of the α-type indoles was either avoided or not satisfactorily explained. Recently WENKERT[6, 31] put forward an ingenious theory, to which we have already alluded. According to him, precursors of the aromatic amino acids, shikimic and prephenic acids are the raw material for the biosynthesis of these bases. In this theory ring E of the yohimbines preexists in the intermediate and the genesis of its carboxyl group is plausible but different from the source of the carboxyl in indoles such as voacangine (XVIII; COOMe on carbon g). One might however consider two ideas, firstly that the origin of the carboxyls in the indole alkaloids is the same and secondly that ring E of the yohimbines is not derived from a carbocyclic precursor but rather is a product of a ring closure reaction. One of the intermediates in the Wenkert theory could accommodate these suggestions. However, rather than prephenic acid-type transformaproach. However the detailed course and meaningfulness of alkaloid elaboration will only be elucidated through intensive work in those laboratories where biosynthesis is being studied *in vivo*. The outcome is bound to reveal subtleties similar to those now so well known in the case of the isoprene rule.

Zusammenfassung

Neuere Erkenntnisse der theoretischen Chemie, Entwicklungen der chemischen Experimentierkunst und neue und verbesserte physikalische Instrumentation haben die Entwicklung der Indolalkaloidchemie im letzten Dezennium entscheidend gefördert. Die erfolgreiche Konstitutionsermittlung einer Reihe längst bekannter Indolalkaloide wurde dadurch ermöglicht. Ihre Konstitution sowie die Strukturen unlängst isolierter Indolbasen lassen auf eine grosse Mannigfaltigkeit im strukturellen Bau der Indolalkaloide schliessen. Die Biosynthese der Indolalkaloide wird kurz diskutiert, zusammen mit Kommentaren über den Ursprung des Rings E und der Carboxylgruppe in den Yohimbinen.

[39] M. F. BARTLETT, D. F. DICKEL, and W. I. TAYLOR, J. Amer. chem. Soc. *80*, 126 (1958).

[40] For a scheme with only one fission of prephenic acid see E. WENKERT ref. [31].

[41] W. I. TAYLOR, Exper. *13*, 454 (1957).

[42] G. HAHN and H. WERNER, Liebigs Ann. *520*, 123 (1935).

[43] Such a $C_6 + C_1$ unit plus tryptamine would account for flavopereirine (XI; minus carbons 16 and 17).

On the Structure and Production of Antibodies

By E. Sorkin*

It is the purpose of this short article to discuss some aspects of the structure and production of antibodies based on some recent experimental facts and theories. Although there are numerous experimental results on the biological aspects of antibody formation, no decisive evidence for the understanding of the actual mechanism of antibody production has as yet been brought forward.

On the Role of Antibodies

It is necessary first to define the term antibody. Generally, antibodies are considered as globular proteins, especially γ-globulins which appear in the sera of animals and human beings upon introduction of a foreign substance, the antigen. A considerable change in the reactivity of the organism towards the antigen (e.g. virus, bacterium, soluble proteins, or polysaccharide) is established thereafter, as indicated by many of the classical phenomena of the immune response.

It is obvious that the ability of animals to form antibody must have been of survival value to the species. The constantly changing environmental conditions in the past and the present have almost certainly eliminated species or individuals not capable of antibody production. Nature has supplied us with a striking case of the significance of antibodies for immunity and survival, namely congenital agamma-globulinanemia. In this disease male children have, at a time when their lymphatic system should have reached immunological maturity, hardly any or no circulating γ-globulin or antibodies and they are extremely susceptible to bacterial infections. Upon immunization they seldom form circulating antibodies nor do they appear to produce any plasma cells. These facts are significant since these cells are usually assumed to be the cells responsible for antibody production. Without antibiotics and passive transfer of 'normal' γ-globulin these patients would succumb to bacterial infections. Naturally these facts should not blind us to overrating the significance of circulating antibodies as a defense mechanism against infectious agents as there are defense mechanisms known, which are not necessarily based on the presence of circulating antibodies or any antibody at all. Indeed the case of congenital agamma-globulinanemia shows that clinical immunity against several virus diseases can be established in these patients[1,2]. Although nothing definite is known about the origin of this type of immunity some unknown type of cell-fixed antibody might be involved.

One of the further functions of circulating antibodies, besides reacting with foreign agents and preparing them for phagocytosis, might be to confer their specifically directed reactivity against the antigen upon cells which had had no previous contact with it. This truly biological function ensues with the development of the capacity to react more efficiently upon second encounter with a virus, bacterium, or any antigen and presents itself as one of the basic phenomena of immunity .That it can be even harmful to the host as in anaphylaxis or other states of hypersensitivity does not detract from this fact.

Recent work has also established that antibodies are involved in several immunopathological processes where no external antigenic stimuli, at least directly, are responsible for the disease. The formation of 'auto-antibodies', that is antibodies directed against host's own cells or modified cellular components can cause a number of auto-immune diseases.

Some Facts about the Structure of Antibodies

Amino Acids. Antibodies are proteins, composed of the known twenty amino acids which are found in most other proteins. Since the molecular weight of human, rabbit, and several other antibodies is about 160000, they must contain some 1500 amino acid residues which have most likely the usual polypeptide backbone with their covalent bonds. No difference in amino acid composition has yet been found between so-called normal γ-globulins and antibodies[3].

Amino Acid Sequence. For an understanding of the correlation between structural features and biological activities and mode of production of antibodies we need to know the sequence of the amino acids. It is obvious from the number of amino acids in such a huge molecule that this is not feasible at the present. However, several N-terminal end-group determinations of intact rabbit antibodies have been performed. It was recognized[3–5] that both rabbit antibody formed against several different proteins and polysaccharides and inter rabbit γ-globulin had a single, common N-terminal amino acid-alanin-per molecule. Both Porter[3] and McFadden and Smith[5] proved that the N-terminal amino acid sequence is alanyl-leucyl-valyl-aspartyl-glutamic acid. It is difficult to use these results on five amino acids out of 1500 to conclude anything on the structure-activity relationship and sequence of amino acids in the various antibody molecules.

* Tuberculosis Immunization Research Centre, c/o Statens Seruminstitut, Copenhagen (Denmark).

[1] R. A. Good, in *Immunopathology* (Ed. P. Grabar and P. Miescher, Benno Schwabe & Co., Basel/Stuttgart 1959), p. 41.

[2] D. Gitlin, C. A. Janeway, L. Apt, and J. M. Craig, in *Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States* (Ed. H. S. Lawrence, Hoeber-Harper, New York 1959), p. 375.

[3] R. R. Porter, Biochem. J. *46*, 473 (1950).

[4] E. S. Orleans, Nature *175*, 728 (1955).

[5] M. L. McFadden, and E. L. Smith, J. biol. Chem. *214*, 185 (1955).

Enzymatic Degradation of Antibodies. Work on numerous proteins has shown that the intact primary structure is not essential for the biological activity of proteins[6].

Extending earlier studies, Porter[7] recently prepared rabbit γ-globulin from normal and immune rabbits and split them by digestion with crystalline papain. Three large fragments I, II, and III, which together formed 90% or more of the original molecules were recovered from the digest by chromatography on carboxymethylcellulose. The ratios of yield of the split products averaged 1:0.8:0.9 (I:II:III) and the relative sizes as determined in the ultracentrifuge were 1:1.05:1.6. Two of the fragments I and II of molecular weight 50000 to 55000 retained the power to combine with the antigen specifically and each contained probably one antibody combining site. The third piece (III) of molecular weight about 80000 crystallizes easily and showed no reaction with the antigen. However, it precipitated most of the antibody present in goat and rat anti-γ-globulin serum and therefore presumably contains much of the antigenic specificity of the original molecule.

These significant findings by Porter have led to the conclusion that rabbit γ-globulin is formed of two pieces with very similar structure and joined to a third piece of quite different character. Table I summarizes these results.

In view of the distinctive characters of the three fractions the possibility was considered whether they might be synthesized separately and joined into the whole molecule in a separate step. Incorporation experiments with injected radioactive amino acids, however, showed no evidence for independent synthesis of these fractions.

No conclusion is possible from this work as to whether the primary structure in all rabbit antibodies is identical and whether the different antibody combining sites are only formed by refolding of the same polypeptide chains as suggested by Pauling[8]. But clearly this type of approach has important implications and further results can be awaited with interest.

The Immunospecificity of Antibodies

This aspect has been discussed recently by Talmage[9] and earlier by Landsteiner[10] and therefore only a few selected items will be mentioned here. One of the fundamental problems of antibody production is that stimulation of a host by an apparently unlimited number of antigenic substances should lead to the formation of a seemingly unlimited number of antibodies. Since there are probably millions of living species existing and each of them contains perhaps thousands of different antigenic proteins, enzymes, and polysaccharides, one host might be expected to distinguish between at least 10^9 molecular species. Furthermore, even one antigenic site or haptenic group can give rise to a recognized variation in the degree of complementarity of the antibody combining site. If we add to these the theoretical possibility of the huge number of hapten-protein combinations as antigens the recognition and specificity problem on the cellular and molecular synthetic level seems of a considerable order of magnitude, even if we consider the restrictions imposed by the well-known cross reactions. The most obvious explanation is offered by the hypothesis that an antigen conveys instructive specification on the γ-globulin molecule during some stage of its synthesis, be it by genetic modification (indirect template theory) or by direct interference, e. g. during the folding of the polypeptide chain (direct template theory). While the classical concept of immunospecificity and antibody production assumes that the specificity of antibody is due to instructive interference by the antigen and that the host does not provide the information, Jerne[11],

[6] R. L. Hill, J. R. Kimmel, and E. L. Smith, Ann. Rev. Biochem. *28*, 97 (1959).
[7] R. R. Porter, Biochem. J. *73*, 119 (1959).
[8] L. Pauling, J. Amer. chem. Soc. *62*, 2643 (1940).
[9] D. W. Talmage, Science *129*, 1643 (1959).
[10] K. Landsteiner, *The Specificity of Serological Reactions* (Harvard University Press, Cambridge, Mass. 1945.)
[11] N. K. Jerne, Proc. nat. Acad. Sci., Wash. *41*, 849 (1955).

Table I: Some results of papain digestion of rabbit γ-globulin containing specific antibody (Porter 1959)[7]

	Fragment I	Fragment II	Fragment III	Original
Molecular weight	50000–55000	50000–55000	80000	187600
Molar ratio	1	0.8	0.9	—
Antigenicity	none (in goat)	none (in goat)	strong (in goat)	strong
Antibody combining capacity (inhibition)	specific	specific	none	specific
Amino acid composition	as in II	as in I	very different from I and II	—
N-terminal amino acid	alanyl-	alanyl-	—	alanyl-
Carbohydrate	1.1%	0.25%	2.2%	1.1%
Heat stability	—	—	110°C; 1 h	—

Talmage[9], Burnet[12], and Lederberg[13] have recently developed alternative ideas. Their basic proposition is that antibody is natural globulin, produced by selected clones of cells. Furthermore Talmage[9] suggests that the specificity of the antibodies is due to a unique combination of antibodies, which were selected out from these natural globulins.

The Active Center of Antibodies

It is generally agreed that the number and size of the antibody combining sites are small and apart from some exceptions the number of the sites probably does not exceed two. Landsteiner has shown already that if the size of an artificial antigenic determinant is too large then antibodies are only formed against a proportion of the antigen. This might suggest a definite limit of the size in the antibody receptor site, which has been estimated by Campbell and Bulman[14] to be not larger than 700 Å^2. Only about 1% of the entire surface of the antibody molecule is likely to participate in its interaction with the determinant group of the antigen.

Nothing definite is known on the relative positions of the antibody combining sites, but for steric reasons they cannot be very close. We cannot discuss in the available space the interesting question of the shape of the active center, the number of amino acids necessary for binding a protein, a polysaccharide, or a hapten[15–17].

While it is possible that there are also electrostatic forces involved in the binding between protein antigens and their antibodies, there are probably only hydrogen bonds and van der Waal forces in the three dimensional network acting between carbohydrates and antibodies (see Fig. 1).

Future work will have to determine the fine structure and amino acid sequence of the (cavity-like?) active center in antibodies as it has been worked out already for several enzymes and hormones.

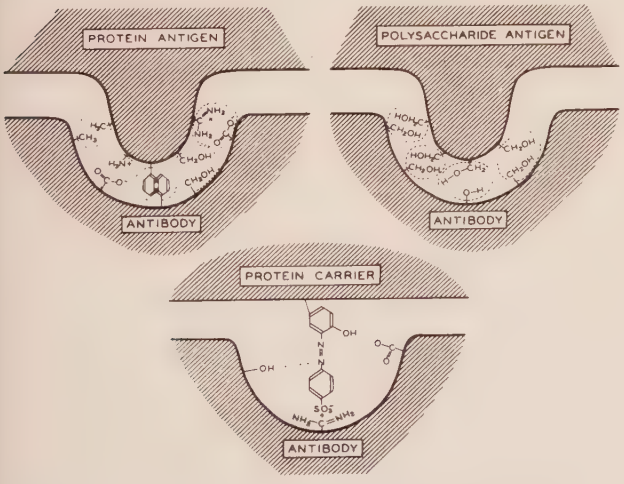


Fig. 1: Antigen-Antibody complexes stabilized by various types of bonds (hypothetical)

On the Biosynthesis of Antibodies

In discussing antibody synthesis it[18] is necessary to remember that antibodies are proteins which are not distinguished in their overall amino acid composition from many other proteins. There is not much reason to doubt that the 20 amino acids are built into the polypeptide chain of an antibody molecule, at least in part, by a similar mechanism as is now recognized for other proteins, but the experimental evidence for antibodies is still lacking. What has to be explained, however, is how and at what stage the molecule assumes its specificity. In other words, (1) does sequential information *eo ipso* determine antibody specificity? (2) Where does this information come from, is it genetically determined?[13] And (3) could or must antigen influence the process of information? But let us examine first some facts on the cellular origin and kinetics of antibody production.

Some Facts on the Cellular Origin of Antibodies

Earlier work, as summarized by Coons[19], has shown that the lymphoid tissues are the major site of formation of antibody. Fagraeus[20] and later many authors have demonstrated the relationship between the appearance of antibodies and plasma cells. She recognized that primitive so-called 'transitional cells' in the red pulp of spleen appeared on the third day of a secondary response and gave rise to immature and finally mature plasma cells on the fifth day or later. These and many other findings[19] are of significance because they demonstrate that antibody production is most likely parallel to a developmental process and takes place in a family of cells which is not recognizable morphologically before the antigenic stimulus is applied.

Intracellular antibody in lymphnode cells was demonstrated by Coons in granular parts of the cytoplasm and occasionally in the nucleus in a secondary response. Nothing definite is known yet, however, on the intracellular site of antibody synthesis, but Askonas[21] has obtained antibody from a microsomal fraction after elution at pH 9.5. It could not be established whether these particles were also the site of synthesis of the antibody.

[12] F. M. Burnet, *The Clonal Selection Theory of Acquired Immunity* (Cambridge University Press 1959).
[13] J. Lederberg, Science *129*, 1649 (1959).
[14] D. H. Campbell and N. Bulman, Progr. chem. organ. natur. Products *9*, 443 (1952).
[15] E. A. Kabat, J. cell. compar. Physiol. *50*, Suppl. 1, 79 (1957).
[16] H. Isliker, Adv. Protein Chem. *12*, 387 (1957).
[17] O. Westphal, Naturwiss. *46*, 50 (1959).
[18] H. E. Schultze, Clin. chim. Acta *4*, 610 (1959).
[19] A. H. Coons, Harvey Lectures (Academic Press, New York 1959), p. 113.
[20] A. Fagraeus, Acta med. scand. *130*, Suppl. 204 (1948).
[21] B. A. Askonas, Rec. Trav. chim. Pays-Bas *77*, 611 (1958).

The One Cell – One Antibody Hypothesis

It is well established[22] that the γ-globulin fraction in general and antibodies to a specific antigen are heterogenous. This poses the important question whether this heterogenity has its origin on the cellular or subcellular level. Is it possible that one cell can synthesize only one antibody, as demanded by the clonal cell selection theory, or can one cell produce two, three, or even any number of antibodies with different specificities? And if production of multiple specificities by one cell should be proven, is this due to instructive interference by antigen or due to a multiplicity of ribosomal templates?

The experimental evidence is conflicting at present.

Preliminary studies by Coons[19] with rabbits immunized with two antigens, namely diphtheria toxoid and hen's egg albumin showed, when tested with a mixture of both antigens in a secondary response, that there were approximately twice as many cells stained for both antibodies as in tests for a single antibody. It is assumed tentatively from these observations that cells might respond to a single antigenic stimulus and be capable of synthesizing one kind of antibody only.

Nossal and Lederberg[23, 24] obtained similar results by a basically related method. Since lymph nodes are an important site of antibody production, they prepared single cell suspensions from popliteal lymph nodes of rats, simultaneously immunized against two Salmonella serotypes. Microdroplets of the cells were prepared and the cells in these tested for the presence of anti-flagellar antibody by their ability to immobilize motile Salmonella. They could find evidence of only monospecific cells producing one or the other anti-flagellar antibody.

Attardi *et al.*[25], however, have contradictory evidence. They have strong indications for bispecific antibody forming cells in rabbits serially immunized against two bacteriophages (T_2 and T_5). Cell suspensions obtained from popliteal lymph nodes of immunized rabbits were prepared, the cells dispensed in microdrops or pipettes to obtain single cells, and their antibody producing capacity tested by the neutralization of the phage T_2 and T_5 activity. They found that out of 925 lymph node cells examined, 92 cells (9.9%) produced detectable antibody. 5% of lymph node cells produced anti-T_2 antibody and 2.9% anti-T_5 antibody. Most significantly 18 out of 925 (1.9%) produced both anti-T_2 and anti-T_5 antibody.

It is perhaps worth mentioning here that recent experiments in our laboratory[26] stress the fact that this type of technique has to be evaluated carefully, since the capacity of cells to combine with antigen could be passively conferred from presumably antibody producing cells or rabbit or guinea pig antisera onto normal cells. We found that normal rabbit spleen cells which had been treated *in vitro* with certain rabbit or guinea pig antisera (e. g. against human serum albumin) and then washed are capable of specifically adsorbing isotope labelled antigen, e. g. I^{131}-HSA.

The antibody responsible for this type of effect appears to be distinct from the main precipitating antibody in the serum and the term 'cytophilic antibody' has been suggested. It is not impossible that this antibody could act as antigen receptor on cell surfaces and explain in part the difference between primary and secondary response.

Table II: Adsorption of antigen (I^{131}-Human Serum Albumin) by cells treated with rabbit antiserum or normal serum[26]

Type of cell	Treated with normal serum and washed 4 times	Treated with antiserum and washed 4 times
Rabbit spleen cells	2	556
Guinea pig spleen cells . .	3	648
Rabbit red cells	17	18

0.5 µg of labelled HSA was added to each tube (3,130 counts/min)

The Fate of Antigen in its Relation to Antibody Synthesis

Since the introduction of an antigen supplies the obvious stimulus for production of antibody, the important question remains, how this could happen. If, as is assumed by many workers, antigen supplies directly the information for the specificity of the antibodies it provokes, then clearly antigen or a determinant group thereof has to be present as long as actual antibody synthesis takes place. In some instances this would have to be for several years. Uptake therefore of antigen by the cells capable of antibody synthesis and its persistence is the basic condition for this assumption and also the cause of much difference in theories[27].

The overall experimental evidence, especially in recent years with isotope labelled antigen, is suggestive that antigenic groups can indeed persist intracellularly for some time[28, 29]. Although these results indicate persistence of antigen, they do not provide direct evidence for the participation of antigen in transmitting information by acting as a template. The question also arises whether the low amounts of retained antigen,

[22] R. R. Porter, Folia biol., Prague *5*, 310 (1958).
[23] G. J. V. Nossal and J. Lederberg, Nature *181*, 1419 (1958).
[24] G. J. V. Nossal, Brit. J. exp. Pathol. *39*, 544 (1958).
[25] G. Attardi, M. Cohn, K. Horibata and E. S. Lennox, Bact. Rev. *23*, 213 (1959).
[26] S. V. Boyden and E. Sorkin, Immunology, in press (1960).
[27] E. Sorkin, in *Symposium on the Mechanism of Antibody Formation* (Liblice, Czechoslovakia 1960), in press.
[28] F. Haurowitz, in *Immunity and Virus Infection*, (Ed. V. A. Najjar, J. Wiley, New York 1959), p. 18.
[29] D. H. Campbell and J. S. Garvey, Int. Arch. Allergy *12*, 70 (1958).

for example, a few hundred molecules per cell, are sufficiently high to account for continued stimulation of antibody production. Pollock's results[30] on enzyme induction are a case in point because they suggest that with the *Bacillus cereus* one inducing penicillin molecule is sufficient to result in the production of about 40 molecules of penicillinase/h. Also a few μg of an antigen, e. g. a pneumococcus polysaccharide, can give rise to the production of many grams of antibody.

Rates and Characteristics of Antibody Synthesis

It has been established for a long time that the induction period, the time until antibody is synthesized, is considerably shorter in a secondary response than in a primary one. Experiments *in vivo*[31–33] and *in vitro* (e. g.[34–36]) with labelled amino acids indicate that antibody is synthesized *de novo* from amino acids and this incorporation of the amino acids into antibody appears to occur only within a short period[37]. Incorporation *in vitro* into antibody was found between day 7 and 10 in spleens from rabbits after one injection of e. g. a soluble protein. The synthesis of antibody by spleen fragments *in vitro* took place essentially between day 3–5 after a booster injection and dropped very rapidly, a fact which agrees well with the findings on passive transfer of the antibody production by cells [38–41]. This production period during which immature plasma cells are mainly abundant gives way to the decline period with mature plasma cells in the tissues.

A detailed analysis of the kinetics of synthesis has been attempted by Askonas[42]. She investigated the mechanism of antibody secretion by studying the amino acid pool and incorporation of radioactive amino acids into the antibody by tissue fragments or perfused lungs of immunized animals. Intracellular antibody becomes labelled within a few minutes, but there was a delay of 30–45 min before any of the newly formed antibody was released by the cells and secreted into the extracellular compartments. It would seem that antibody is mixed with an intracellular pool from which secretion occurs continuously.

As is seen from Table III when cells were slightly damaged or broken no net synthesis of antibody could be found.

Further studies for the elucidation of the detailed mechanism of antibody synthesis will have to await results obtained with cell free systems.

Table III: Effect of cell damage on incorporation of C^{14}-glycin into Anti-ovalbumin antibody (Askonas 1958)[21]

Lymph gland	Wet weight (g)	Radioactivity (cts/min/cm²)
Slices	0.35	767
Cells with damaged cell walls	1	8
Homogenate	1	0

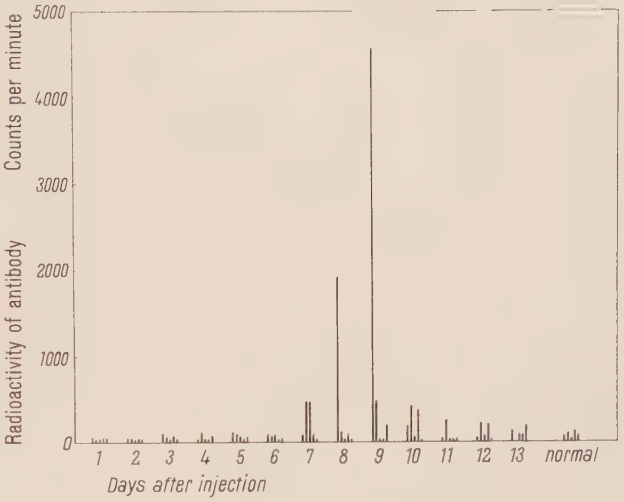


Fig. 2: Antibody synthesis *in vitro* by spleen cells: primary response

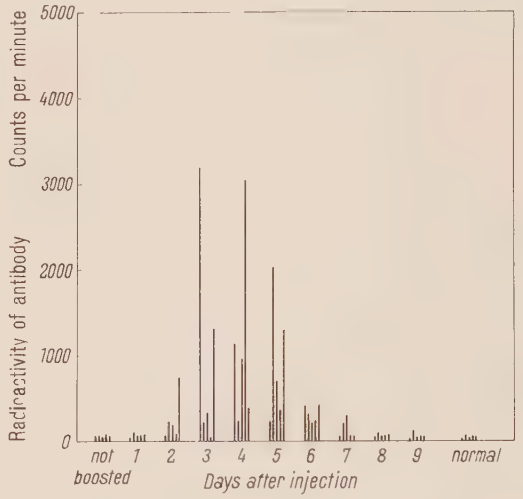


Fig. 3: Antibody synthesis *in vitro* by spleen cells: secondary response

[30] M. R. Pollock, Sympos. Soc. exp. Biol. *12* (1958).
[31] W. H. Taliaferro and D. W. Talmage, J. infect. Dis. *97*, 88 (1955).
[32] F. J. Dixon, P. H. Maurer, W. O. Weigle, and M. P. Deichmiller, J. exp. Med. *103*, 425 (1956).
[33] W. H. Taliaferro and L. G. Taliaferro, J. infect. Dis. *101*, 252 (1957).
[34] B. A. Askonas and J. H. Humphrey, Biochem. J. *68*, 252 (1958).
[35] A. B. Stavitsky, Brit. J. exp. Pathol. *39*, 661 (1958).
[36] H. Green and H. S. Anker, Biochim. biophys. Acta *13*, 365 (1954).
[37] E. Sorkin, J. M. Rhodes and S. V. Boyden, unpublished observations.
[38] S. Harris and T. N. Harris, J. exp. Med. *100*, 269 (1954).
[39] J. Sterzl, Folia biol., Prague *1*, 193 (1955).
[40] F. J. Dixon and W. O. Weigle, J. exp. Med. *105*, 75 (1957).
[41] J. V. Spärck, Acta path. microbiol. scand. *46*, 206 (1959).
[42] B. A. Askonas, in *Symposium on the Mechanism of Antibody Formation* (Liblice, Czechoslovakia 1960), in press.

Recent Facts and Ideas on Protein Synthesis in Relation to Antibody Synthesis

The study of protein synthesis has made extraordinary progress during the last few years (e. g.[43, 44]). In particular the finding that there are at least two ribonucleic acid types, (a) transfer RNA and (b) the microsomal RNA, have stimulated not only experiments but much speculation on the relationship between the genes (DNA), the RNA's and the proteins and the coding problem in general.

The recent findings by several laboratories suggest that possibly 20 different RNA-amino acid complexes of the type illustrated in Figure 4 exist for the 20 amino acids. The various transfer RNA-amino acid complexes are supposed to attach onto a ribosomal RNA-protein template. Each (theoretical) identifying triplet (or quartet?) in the transfer RNA should find its unique complement on this ribosomal ribonucleoprotein template. The amino acids are brought close enough together to react under peptide formation to form polypeptides and then proteins[43, 44].

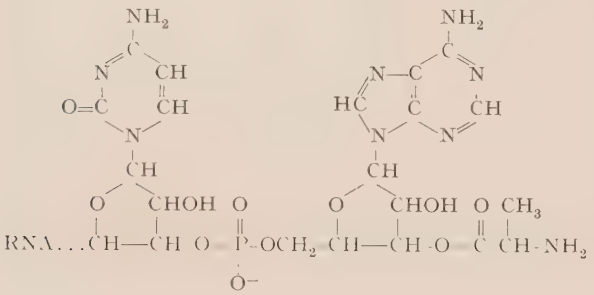


Fig. 4: Endgroup of transfer RNA (Hoagland 1959)[44]

What bearing have these and other facts and speculations on our problem of antibody synthesis? The crucial issue is obviously (1) are the specifications for the amino acid sequence of antibody laid down through a flow information from DNA to the ribosomal template (it is most likely not in transfer RNA's since these might be interchangeable in various tissues), and (2) is it likely from our present knowledge that sequence(?) and folding could be subjected to external (antigenic) influences of the most multiple kind as expressed by the innumerable antigenic agents? Or (3) is it more likely that the folding and three dimensional structure and specificity of antibody (or any protein) is based on the sequence of amino acids alone? While point 1 is likely to be correct but not proven, one has difficulties in imagining that the huge number of varied antigens discussed earlier could possibly act or interfere just at the time and place where the polypeptide chain folds.

If we assume that the reasoning under 3 is perhaps the correct one, and to which several workers will suscribe at the present[13] and agree on the dominating role of the DNA in the genes as the origin of information also for the RNA template, then the following hypothetical picture for antibody formation would emerge.

We have indicated by numbers (1,2) at what stage of antibody production antigen is supposed to interfere according to the instructive theories. It appears to this author at the present, that there is no contradictory evidence that structure and specificity of antibody molecules might be based on a flow of information from the genetic nuclear material (DNA) to a ribo-

[43] F. H. Crick, Sympos. Soc. exp. Biol. *12*, 138 (1958).
[44] M. B. Hoagland, Scientific American *201*, 55 (1959).

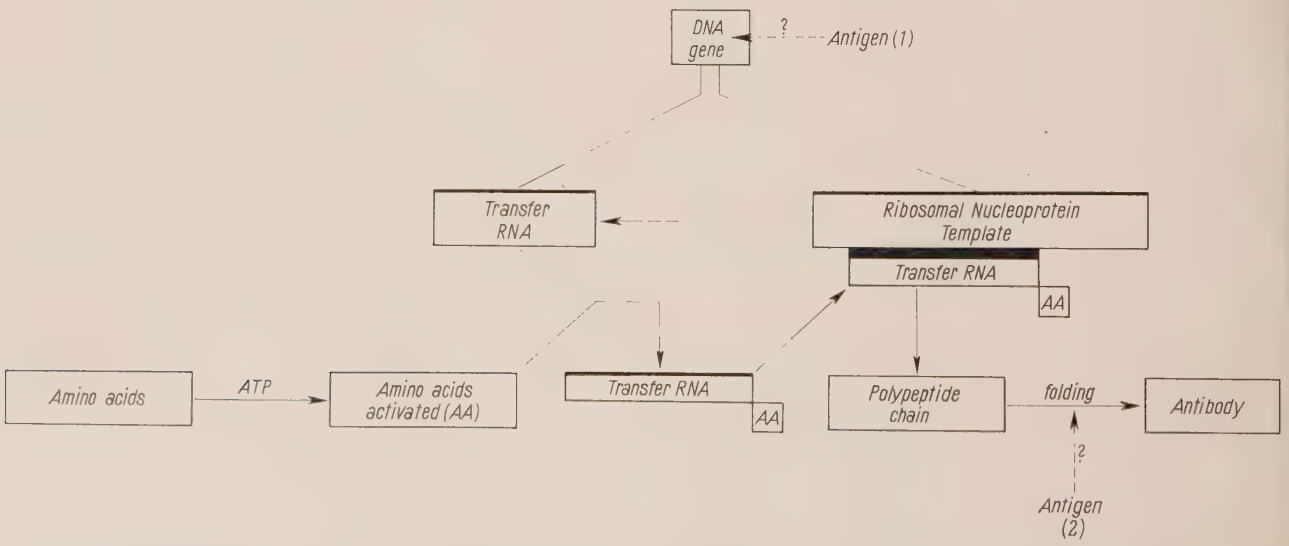


Fig. 5: Simplified hypothetical scheme of antibody synthesis, based on recent work and theories on protein synthesis
The two numbers indicate the suggested but unproven actions of antigen according to the indirect (1) and the direct template theories (2)

somal RNA template, which determines sequence of amino acids and coiling and folding of the polypeptide chain.

The function of the antigen has then to be sought elsewhere. Several possibilities come to mind, how antigen might interfere without imposing structural specification.

(1) Antigen could act by removing an inhibitor (natural antibody?) from the ribosomal template, thus permitting the assembly of RNA-amino acid complexes on the template to form new antibody. This it can only do in cells, potentially capable of synthesizing this antibody and carrying it naturally.

(2) Antigen could react with cell surface antibody (especially in secondary response) and intracellular antibody to produce cytotoxic complexes, perhaps with complement fixation, which could stimulate cell metabolism and eventually result in cellular proliferation and differentiation (see also [9, 12, 13]).

(3) Antigen might act either as such or in the form of e. g. peptide or carbohydrate fragments as the source of specific nutrition for the various kinds of cells producing antibody and stimulate their growth and thus give rise concomittantly to production of antibodies in these stimulated cells.

No information is available yet on any of thsee points, but they are liable to experimental testing.

Zusammenfassung

Einige Probleme der Struktur und Biosynthese der Antikörper werden auf der Basis neuerer Ergebnisse und Theorien diskutiert. Unter den vielen ungelösten Problemen werden hervorgehoben:

1. Die Frage nach der Aminosäuresequenz des «aktiven Zentrums» von Antikörpern.

2. Der biochemische Einfluss des Antigens auf die Zelldifferenzierung und die Faltung der Polypeptidketten.

3. Die Notwendigkeit der zellfreien Antikörpersynthese.

4. Die definitive *de novo* «Induktion» von Antikörper-Produktion *in vitro*.

5. Ein Entscheid über die Fähigkeit individueller Zellen, in ihrer Antikörpersynthese mono- oder multispezifisch zu reagieren.

How Specific is Immunity?

By Hubert Bloch*

The term, 'specificity', is derived from *species*. It characterizes properties as pertaining to a species, restricting them therefore to one kind. For instance, Diphtheria toxin is specific for the microorganism, *C. diphtheriae* since it is not known to occur in the cells of any other species. Likewise, the antibodies produced in an animal after the injection of diphtheria toxin must also be specific. They combine selectively with diphtheria toxin. As a consequence of this reaction, the toxin loses its toxicity. *In vivo*, the specific binding capacity of the antitoxic antibody results in protection against the effects of the toxin. It is by this mechanism that acquired immunity functions in diphtheria.

In connection with the study of infectious diseases, specificity has become an important element in our thinking. Pathogenic microorganisms are usually thought of as 'specific' agents causing 'specific' disease syndromes. In turn, under the impact of an infection, the diseased organism mobilizes 'specific' defense mechanisms resulting in 'specific' immunity to subsequent attacks. In a few diseases (of which diphtheria is an example), the chemical agent mediating the disease symptoms is known to be a toxin which can be isolated and purified. There is usually little or no chemical difference between the toxins obtained from various strains of toxin producers of the same species of microorganisms. The same antibody will therefore neutralize all of these products.

In most infectious diseases, however, the pathogenic effects cannot be attributed to a known toxin. Yet, infection may still result in specific immunity. Such is the case in measles or chicken pox. The pathogenic viruses being of a single stable type, immunity is acquired against this one type (and therefore specific). But examples of this sort are rare. In other virus diseases, e. g. influenza, identical clinical symptoms are caused by a great variety of viral agents which differ in their serologic types and leave little or no cross-immunity against infections with other types of the same virus. True, with respect to any one particular virus strain, the immune response as such is equally specific in these cases as it is with measles, but with regard to the manifestations of the disease caused by these viruses, there is very little specificity. Similar pathological symptoms are brought about by serologically different virus strains and the immunity resulting from infection with one type does not necessarily confer protection against subsequent attacks from viruses of other types.

There is among these viruses a high degree of variability. Mutants appear at a frequent rate and the serologic types prevailing in successive epidemics are sufficiently different from each other so as to provide no

* Departement of Microbiology, School of Medicine, University of Pittsburgh (Pa.).

immunologic protection outside their own type. This situation is by no means typical of virus infections alone. Bacterial diseases vary in the same manner from infections with genetically stable strains resulting in specific acquired immunity (e. g. anthrax) to disease entities caused by strains with a high mutation rate leaving little protection against subsequent infections with serologic variants (e.g. Salmonellae). Thus, in regard to protection against subsequent infections, the effectiveness of the specific immune response hinges on the serologic stability of the infectious agents and becomes limited with increasing bacterial or viral variability.

In contrast to this situation, there are many infections where specific immunity seems to play a minor part in the overall defense picture. The infectious agents are not known to cause the formation of protective antibodies. Nevertheless, some secondary resistance seems to be acquired in the course of an infection. In these instances, the mechanisms mobilized by the host are termed non-specific, because their identity appears to be independent of the infectious agent eliciting their formation.

This fact by itself would not suffice to deprive such mechanisms of their specificity label. Common antigens may quite conceivably exist amongst a number of otherwise unrelated infectious agents. Although their occurrence in more than one species would make such antigens 'nonspecific', the immune response they elicit is nevertheless 'specific', though for the antigen rather than for the organisms in which it occurs. Cross-immunity between unrelated microorganisms has long been known to exist, as for instance, between typhus rickettsiae and Proteus X 19.

The question therefore arises: Is all so-called non-specific immunity based on the existence antibodies elicited by widely distributed antigens? Or is there significant non-specific resistance, the mechanism of which cannot be traced to antigen-antibody reactions?

The present discussion is limited to *acquired* resistance. We are not considering differences in susceptibility to infections among various species. As pointed out repeatedly by Doerr, lack of susceptibility to infection is not be confounded with resistance. There are only very few susceptible host species for any given potential parasite and a search for the mechanisms permitting the establishment of a host-parasite relationship would be more fruitful than to look for defense mechanisms preventing successfull infection. The case becomes different, however, where a species is potentially susceptible. Here, special defense mechanisms may prevent an infection from establishing itself and a number of such mechanisms seem to lie outside, or at the periphery of the realm of classical immunity. Phagocytosis and bactericidy of body fluids, e.g. play important parts in the defense against infections and their relationship to acquired immune mechanisms must be considered. It is common knowledge that antibodies (opsonins) enhance the phagocytic activity of the reticulo-endothelial system. This enhancing effect, however, is immunologically specific.

Other observations are more difficult to interpret. Thus, it has been known for over half a century that the serum of many animal species possesses remarkable antibacterial and antiviral activity[1]. However, there seems to be no relationship between the susceptibility of a species to certain infections and the bactericidal activity of this species' serum against the infectious agents in question, nor does previous exposure to such agents seem to have anything to do with this serum activity.

The serum factors responsible for this activity are called 'natural' antibodies. They are γ-globulins, indistinguishable physico-chemically from immune γ-globulins. Wilson and Miles summarize the problem as to the origin of natural antibodies as follows: Natural antibodies may owe their origin to any one of four mechanisms: actual infection with the corresponding microbe; infection with another microorganism, sharing a common antigen; the entrance via the intestinal tract, or any other route, of antigenic material capable of stimulating the production of cross-reacting antibodies; or the formation of such antibodies as a by-product in the normal functioning of the antibody-forming apparatus altogether apart from any specific external stimulus[2].

The first of the four mechanisms is possible wherever inapparent infections cannot be excluded, i.e. where the antibody-forming species is a potential host for the microbe in question and where ecologic conditions render infection possible. The antibodies elicited in this fashion would then be regular immune antibodies rather than 'natural' antibodies.

The second and the third of the four postulated mechanisms may well operate in more instances than is generally believed to be the case. As mentioned above, it is not unfrequent for microorganisms to share common antigens. If the antibodies which these antigens elicit are functional in conferring anti-infectious immunity, their role must be considered. Inapparent infections are certainly more frequent than is generally believed, and the ingestion of bacterial components is a daily event in anyone's life.

The answer as to just how significant the two possible mechanisms are must come from observations on germ-free animals. Animals reared in a germ-free environment should not have natural antibodies if the second of the four mechanisms is responsible for their occurrence. On the other hand, even in a sterile environment the third mechanism could be effective since

[1] E. Bürgi, Arch. Hyg. (D) *62*, 239 (1907).

[2] G. S. Wilson and A. A. Miles, in Topley and Wilson's *Principles of Bacteriology and Immunity*, Fourth edition (Williams and Wilkins, Baltimore 1955).

dead bacteria or non-bacterial material sharing common antigens with microorganisms may still be ingested and elicit the formation of specific or cross-reacting antibodies. Thus, germ-free rats and chickens reared in a sterile environment were found to have antibodies (agglutinins) against staphylococci[3]. There was suggestive evidence that the food of these animals was contaminated with the corresponding cocci before it was autoclaved and that the ingestion of dead organisms led to the formation of antibodies. Similarly, evidence has been presented that the antihuman blood group B agglutinins which are regularly found in the serum of chicks are elicited by absorption from the intestinal tract of a strain of *E. coli* which possesses high blood group B antigenicity and is a frequent contaminant of the natural habitat of chicks found in their normal intestinal flora[4,5].

These examples to which others could be added clearly demonstrate that infection with, or ingestion of homologous or heterologous antigens can be responsible for the appearance of so-called natural antibodies; that these antibodies are in no way different from immune antibodies; and that they are specific with regard to the antigen which elicited their formation. In case these antibodies happen to fit certain bacterial or viral antigens, they would have the same function in resistance against infection as homologous immune γ-globulins. Depending on whether they were elicited by homologous bacterial antigens or by cross-reacting heterologous materials, their effect would have to be called specific or non-specific.

The fourth of the possible mechanisms, i.e. the formation of natural antibodies apart from any specific external stimulus thus remains the only one which would clearly distinguish natural antibodies from immune γ-globulins. Students of immunology have always been impressed with the high degree of specificity which characterizes the immune response. Indeed, serologic methods are among our finest tools for the differentiation of closely related, chemically similar macromolecular products such as proteins or polysaccharides. On the other hand, one might be equally impressed by the *limits* of specificity of the immunologic reaction. The classical work of Landsteiner[6] cites numerous examples of cross-reactions between an antibody and entire families of antigens, or, *vice versa*, between an antigen and families of antibodies. Indeed, there are few antibodies which do not to some extent cross-react with chemically similar antigens. Specificity expresses itself merely quantitatively, the titer against the specific antigen being higher than against the others. If there is any merit in the fourth of the proposed mechanisms, γ-globulins must be shown to occur in the total absence of all possible antigenic stimuli.

As is well known, the γ-globulin level in the serum of newborn humans or animals is low, but tends to rise within a few weeks after birth. Comparative experiments with normal stock and with germ-free animals indicate that this rise is due to exterior antigenic stimulation[7]. Despite the fact, however, that within a few weeks after birth, normal stock animals have significantly higher γ-globulin levels than are found in germ-free animals, it is important to stress in this connection that some γ-globulin is always found, even in the apparent absence of all antigenic stimulation. Could such γ-globulins then be regarded as true natural antibodies? Unfortunately, too little is known as yet about the ability of these γ-globulins to interact with other macromolecules. To obtain this information, one would have to react serum from germ-free animals with a great number of randomly selected potential antigens and test these sera for antibacterial activity, etc.

Antigen-antibody reactions follow the laws of protein-protein interactions. To illustrate the specificity of protein interactions, Emil Fisher used the lock-and-key symbol. This view was adapted by Ehrlich in explaining his sidechain theory of immune reactions and antibody formation. One of the main objections to accepting Ehrlich's theory was the unlikelihood that the countless variety of antibodies (locks) really existed which was needed to satisfy the specificities of all conceivable antigen configurations (keys). This objection, however, need not be valid. In a recent article on antibody formation, Talmage[8] uses again the same parabolic language when he points out that to any size set of locks and keys, there can be made a masterkey, similar but slightly different from all individual keys, yet opening all the locks. According to this view, it is not necessary to postulate the existence of an unlimited number of pre-formed antibodies, each one fitting just one of all conceivable structures of antigens. Rather, a very limited number of pre-formed antibodies would suffice to serve as templates in the final production of specific antibodies. The fit of the relatively few pre-existing globulins would not be perfect, but like the masterkey, it would be adequate to function until the accelerated formation of more specific, better fitting antibodies has been initiated.

In summary then, it seems that a great majority of the so-called non-specific or natural antibodies are in fact elicited by *bona fide* antigens and that such activities as bactericidy of serum are either due to specific reactions with the eliciting antigen itself, or to cross-reactions with other microorganisms sharing a common molecular configuration with the original antigen. Only

[3] M. Wagner, Ann. N. Y. Acad. Sci. *78*, 261 (1959).

[4] G. F. Springer, R. E. Horton, and M. Forbes, J. exp. Med. *110*, 221 (1959).

[5] It is interesting to note that even such eminently 'natural' antibodies as red blood cell agglutinins may often be acquired rather than endogenous.

[6] K. Landsteiner, *The Specificity of Serological Reactions* (Harvard University Press, Cambridge 1945).

[7] B. S. Wostmann, Ann. N. Y. Acad. Sci. *78*, 254 (1959).

[8] D. W. Talmage, Science *129*, 1643 (1959).

those γ-globulins which were formed in the absence of any antigenic stimulus, i.e. the non-maternal γ-globulins occurring in newborns or in germ-free animals may then be regarded as truly natural non-specific antibodies.

In recent years, there has been a renewed interest in other non-specific defense mechanisms, especially after Pillemer *et al.*[9] described a bactericidal serum factor which they called properdin and which they thought had many of the properties claimed to be essential characteristics of an important non-specific defense mechanism: It had a broad spectrum of activity, it was stimulated by such non-specific and non-antigenic agents as bacterial endotoxins and was thought to be independent in its action of the presence of humoral or cellular antibodies. It was a protein but differed from antibodies in many respects. A great number of studies, too numerous to be reviewed here, have been undertaken to test the validity of these claims. There seems to be fair agreement on the observed facts, but there is disagreement on their interpretation. Especially, one crucial question remains open: Are not many of the effects which were attributed to the properdin system actually caused by properdin *and* antibody; and is not the contribution of properdin rather secondary in importance? Convincing evidence has recently been published showing that a careful new evaluation is needed and that properdin seems indeed to play only a minor role in the so-called non-specific defenses of the host as measured by the bactericidal properties of serum[10,11].

We could dismiss the question as a mere semantic problem and satisfy ourselves with the fact that there are serum factors, whether called natural antibodies or properdin, which have a major function in defense. However, the question which was asked in the title of this essay still remains to be answered. How specific is immunity? Wherever acquired immunity against infection is attributable to circulating serum constituents, it seems that in the great majority of cases the activity rests with antibodies. These are either homologous, i. e. elicited by the infectious agent with which they react, or heterologous for having been brought about by materials which were different, but structurally related to the infectious agent. In regard to the infectious agent, the homologous antibodies are specific, the heterologous nonspecific. However, both types of antibodies are acquired by the same immunologic mechanisms and function alike. The same is presumably true for normal γ-globulins occurring in the serum without any external stimulus. Where antibodies are concerned in acquired resistance, the difference between specific and non-specific immunity rests solely in the nature of the antigenic stimulus which elicited antibody formation. Operationally, specific and non-specific immunity are similar. There is an impressive body of evidence showing that antibodies are indeed responsible for most manifestations of acquired resistance against infection and that the role of other serum factors is far from clear at the present time.

Zusammenfassung

Der vorstehende Artikel enthält eine allgemeine Diskussion über die Grenzen der Spezifität, die der erworbenen Resistenz gegen Infektionskrankheiten zugrunde liegt. Es wird die These vertreten, dass spezifische Mechanismen von grösserer Bedeutung sind als häufig angenommen wird und dass sog. unspezifische Abwehrkräfte in vielen Fällen sich nicht von echten Antikörpern unterscheiden lassen.

[9] L. Pillemer, Ann. N. Y. Acad. Sci. *66*, 233 (1956).
[10] R. A. Nelson, Jr., J. exp. Med. *108*, 515 (1958).
[11] E. Osawa and L. H. Muschel, J. Immunol. *84*, 203 (1960).

On the Role of Non-Specific Factors in the Pathogenesis of Infectious Disease

By E. Suter*

After the first discoveries of bacteria as agents of disease the search for pathogenic components produced by these agents resulted in significant findings. Consequently, the ability to produce toxin or toxin-like substances by pathogenic microorganism was assumed to be the major contributory factor in the elicitation of disease. This assumption provided a satisfactory explanation of the pathogenesis of disease in which isolated and purified toxins were shown to reproduce the clinical picture of the disease, as in diphtheria, tetanus, gas gangrene, and others. However, the limitations of this concept were realized when it became apparent that microorganisms, obviously capable of causing severe and often fatal infections, failed to yield products with any striking pathogenic effect. In infections caused by such agents no substances were found which could elicite in a susceptible host a clinical picture similar to the one produced by the living pathogen. Therefore, other mechanisms in addition to those based on toxin production were considered. Disturbances of the normal functioning of the host's tissues were recognized to be caused by the metabolic activity of the pathogen. Furthermore, the interaction of antibodies or antibody-like substances with bacterial components were found to cause severe tissue damage. At least some of the

* Department of Microbiology, College of Medicine, University of Florida, Gainesville.

functional and morphological lesions occurring during the course of certain infections could be explained on this basis.

Corresponding to the early concept of the specificity of infectious processes, the reaction of the host to infection was recognized essentially as a specific response. This view was based on the discovery of antitoxin in serum of man and animals recovering from various infectious diseases. It was strengthened by the fact that these sera had specific protective power against infection. Recovery from infection and resistance to subsequent reinfection could be explained by this mechanism in a great many instances. However, the response of the host to other infections did not concur with this concept. Subsequent findings revealed the importance of non-specific mechanisms in resistance to initiation of infections and recovery from them. Work in this direction has been reviewed recently[1]. It is evident that resistance to infection is the resultant of specific and non-specific mechanisms which can be influenced by many factors. Besides hormonal imbalance and nutritional status, the injection of various substances such as endotoxins and levans alters resistance to infection in a non-specific manner. In the case of endotoxin the time relationship between preparatory injection and challenge infection, and the lack of antigenic relationship between preparatory material and infective agent, exclude an explanation of the alterations on the basis of antigen-antibody reactions. Further analysis showed that such injections with endotoxin resulted in altered activity of the elements of the reticulo-endothelial system, in fluctuations of the properdin level in the serum, and in increased activity of the antibody producing system[1]. At present, active research on the mechanism of these alterations is in progress. No doubt, some of these reactions are closely related to Shwartzman or Shwartzman-like phenomena.

Our laboratory has been concerned with reactions similar to those described above, but in reverse order. Thus, mice infected with BCG (Bacillus Calmette-Guérin) were found highly susceptible to the lethal action of intraperitoneally or intravenously injected endotoxin or its lipopolysaccharide complex. The difference between normal and BCG infected mice was approximately 100-fold; the LD_{50} of lipopolysaccharide for normal mice being 300–400 μg and 0.5–5 μg for BCG infected ones[2]. This 'hyperreactivity' of BCG mice towards endotoxin appeared to be a non-specific reaction, since lipopolysaccharides from several gram-negative organisms and a preparation of lipid A derived from one of them proved active. Most interestingly, BCG infected mice were also killed by extremely small amounts of a polysaccharide derived from mouse erythrocytes whereas large doses of the same were required to kill normal mice[3]. As findings of other laboratories indicated, the induction of such a state of hyperreactivity was not limited to BCG infection or to the mouse. Similar phenomena were described in mice, guinea pigs, and rabbits with *Hemophilus pertussis*, *Brucella* sp., *Coxiella burneti*, and *Eperythrozoon coccoides*. Mice infected with some of these agents exhibit increased susceptibility not only to bacterial endotoxin but also to biogenic amines and antibody-antigen complexes (for references see [3]).

Obviously it was of interest to explore whether these phenomena had to be treated as laboratory reactions or whether some significance could be attributed to them in relation to pathogenic manifestations during infections. At first it appeared quite paradoxical that infection with an agent, namely BCG, which is known to induce increased resistance to challenge not only with virulent tubercle bacilli but also with non-related agents such as *Salmonella enteritidis* and experimental tumors[4, 5], should cause such a strong hyperreaction towards endotoxins. However, observations made during an epidemic of typhoid fever indicated that such hyperreactivity reactions might also occur in man[6]. An intense vaccination program was undertaken in a population, members of which were certainly already infected when vaccinated. Some of these individuals exhibited very severe reactions a few hours after injection of the vaccine and suffered a more protracted course of the infection than was to be expected. This provocative effect of vaccination on an already established infectious process could be reproduced in mouse experiments using various strains of *Salmonella* either as infectious agent or as heat-killed vaccine. This phenomenon was attributed to an enhancement of virulence of the infecting organisms by the injection of vaccine[6]. Our own findings, summarized above, suggest a different interpretation of this observation. It appears likely that the primary infection induced a state of hyperreactivity towards endotoxin and that the vaccination is equivalent to the introduction of a large amount of endotoxin resulting in an acute reaction similar to the one observed with BCG mice injected with lipopolysaccharide. Careful study of the experimental results given in these publications[6] indeed reveals that up to 50% of the infected mice died within 24 h after vaccination, and that the reaction is most apparent when vaccination is done about seven days after infection. This time interval corresponds well with the interval required for hyperreactivity to appear in BCG vaccinated mice. To test this interpretation the following experiments were done.

[1] M. Shilo, Ann. Rev. Microbiol. *13*, 255 (1959).

[2] E. Suter, G. E. Ullman, and R. G. Hoffman, Proc. Soc. exp. Biol. Med., N. Y. *99*, 167 (1958).

[3] E. Suter and E. M. Kirsanow, manuscript in preparation.

[4] J. G. Howard, G. Biozzi, B. N. Halpern, C. Stiffel, and D. Mouton, Brit. J. exp. Path. *40*, 281 (1959).

[5] G. Biozzi, C. Stiffel, B. N. Halpern, and D. Mouton, C. R. Soc. Biol. Paris *153*, 987 (1959).

[6] H. Raettig, Zbl. Bakt. Parasitenk., I. Orig. *174*, 192 (1959); *175*, 236, 245 (1959).

Table I: Mortality of Normal and BCG Vaccinated Mice Challenged with Endotoxin, Heat-Killed, and Live *Salmonella typhimurium*

Challenge	Control			BCG [a]		
	Mortality [b]		Number organisms recovered [c]	Mortality [b]		Number organisms recovered [c]
	Numbers	Hours		Numbers	Hours	
Endotoxin 1000 µg	4/4	3–24		–	–	
100 µg	0/10	–		10/10	3–4	
10 µg	–	–		3/5	4–8	
Salmonella typhimurium						
heat-killed: 2×10^8 [d]	0/10	–		10/10	4–12	
2×10^7	0/5	–		5/5	4–24	
2×10^6	0/5	–		1/5	6	
2×10^5	0/5	–		0/5	–	
Live: 2×10^8	10/10	24– 72		10/10	3–5	
2×10^7	4/5	24–120		5/5	3–6	
2×10^6	4/10	120–144	1.6×10^6	3/10	48–144	1.8×10^6
2×10^5	0/5	–	1.8×10^4	0/5	–	1.6×10^2
2×10^4	0/5	–	5.0×10^3	0/5	–	1.8×10^2

[a] Mice were injected with 0·2 ml of a BCG culture 8 days prior to challenge.
[b] Number of deaths over total numbers injected. Hours elapsed between injection and deaths.
[c] Survivors challenged with live *S. typhimurium* were killed on the 7th day and the number of organisms in the spleen was determined by plate counts. Numbers indicate organisms per 100 mg spleen.
[d] Number of organisms injected.

Experiment 1: Swiss white mice (Institute for Cancer Research strain) were injected by the intravenous route with BCG (0·2 ml of a 10-day old culture grown on 'Tween'-albumin medium). Seven days later groups of BCG infected and of normal mice were injected intravenously with graded amounts of endotoxin and of living and heat-killed *Salmonella typhimurium*. Deaths were recorded in all groups up to 7 days. All surviving animals challenged with living organisms were killed on the 7th day and quantitative counts of living *Salmonella* were done on their spleens. The combined results obtained in two independent experiments are recorded in Table I. It can be seen that mice infected with BCG were much more sensitive to the intravenous injection of endotoxin. The same was true for heat-killed and live *Salmonella*. All BCG vaccinated mice died within 4–24 h after injection of 10^7 and 10^8 live or heat-killed *Salmonella*. Normal mice infected with live organisms died within one to three days when 10^8 organisms were used and survived somewhat longer than those infected with smaller doses. Culture from the spleens of the survivors revealed that with 10^6 organisms injected, the content of *Salmonella* in the spleen was approximately the same in normal and BCG infected mice. However, it was much lower in the latter mice than in controls when challenged with smaller inocula. It is apparent that the altered reactivity after BCG infection may have resulted in increased or decreased susceptibility to challenge infection with an immunologically unrelated agent. Hyperreactivity to endotoxin was responsible for acute deaths after injection of large amounts of *Salmonella*, whereas the animals dealt more effectively with small inocula. It is important to emphasize that in this model any immunological relationship between preparatory and challenge infection can be excluded.

Experiment 2: Swiss white mice (Institute for Cancer Research strain) were injected intraperitoneally with *Salmonella typhimurium* and tested 7 days later for hyperreactivity toward endotoxic lipopolysaccharide. The results summarized in Table II indicate that injection with *Salmonella* induced in mice a state of hyperreactivity similar to that after vaccination with BCG.

Table II: Mortality from Endotoxin of Mice Previously Infected with *Salmonella typhimurium* or BCG

Endotoxin µg	Infection					
	Salmonella		BCG		Control	
	deaths/number injected	%	deaths/number injected	%	deaths/number injected	%
1000	—	—	—	—	15/18	83
100	17/18	94	8/12	67	4/18	22
10	10/18	56	5/12	42	0/14	0
1	4/18	22	6/12	50	—	—
0.1	1/12	8	0/10	0	—	—

The observation of Raettig [6] on man and our experiments on mice strongly indicate that a state of hyperreactivity towards endotoxin developing during an infection might well contribute to the pathophysiologic processes manifested by this infection. The fact that BCG vaccination may result in increased or decreased susceptibility to an unrelated challenge infection sug-

gest that fluctuations of the host's reactivity to a given infection might occur independent of immunological phenomena. The actual reactivity of the host to a given amount of toxic material and not the absolute potency of the material determines the degree of toxic manifestations during the infection. It can be assumed that such hyperreactivity phenomena need not necessarily be manifested by obvious toxic reactions but may result in subtle disturbances of various systems of the host. It is suggested that physiological and pharmacological studies on such models may be a fruitful approach towards an understanding of pathophysiologic processes in infection. As our experiments show, such studies may also provide information on the relationship between invasive and pathogenic mechanisms.

Acknowledgement: This investigation was supported by Grant E 1302-C3 from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, United States Public Health Service.

Zusammenfassung

Es wird einleitend darauf hingewiesen, dass mehr und mehr die Bedeutung von unspezifischen Faktoren für die Resistenz gegen Infektionen erkannt wird. Solche Faktoren können wohl auch in der Pathogenese von Infektionskrankheiten eine Rolle spielen, so zum Beispiel eine erhöhte Sensibilität gegen Endotoxin, die während den verschiedensten experimentellen Infektionen in Tieren nachgewiesen werden kann. An Hand von Experimenten an Mäusen wird dargestellt, in welchem Ausmass eine vorausgehende Impfung mit BCG den Ablauf einer nachfolgenden Infektion mit *Salmonella typhimurium* in verschiedenster Weise beeinflussen kann. Dies hängt weitgehend davon ab, ob grosse oder kleine Dosen zur Infektion verwendet werden.

Some Remarks Concerning the Ecology of Bedsonia Infections

By K. F. Meyer*

In 1953 in a discussion of the nomenclature of the psittacosis group, sponsored by the New York Academy of Sciences, it was recommended that the system be changed so that the investigator who first elucidated the morphologic, physiologic, and immunologic properties of this group – Sir Samuel Bedson – would be properly recognized (Meyer[1]). It was proposed that the group name *Miyagawanella*, adopted in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, composed by a committee of the American Society of Bacteriologists, be replaced by *Bedsonia*, since the virus of lymphogranuloma venereum can scarcely be regarded as the prototype of the group.

One cannot be satisfied easily in finding even some simple term for reference to members of this group; neither rickettsia nor virus is a perfect fit. In the following remarks they will be given the questionable term virus, since no common appropriate twilight term is at hand.

The recognition of new antigenic relatives of the psittacosis and lymphogranuloma venereum (LGV) viruses has catalyzed investigations on a much broadened front in laboratory and field studies. The relationships of the old and new members, the natural and experimental infections, the virus particles, and the antigenic and chemical structures have aroused a new wave of curiosity and study. The group has been well reviewed recently from several points of view (Weiss[2]; Wenner[3]; Meyer and Eddie[4]; Bedson[5]), and this seems the time to integrate the old and new information.

General Characteristics of the Group

During the past 20 years, elaborate and painstaking studies, first of the psittacosis virus, then lymphogranuloma venereum, and later other avian and mammalian viruses, have established the widespread existence of distinct biologic groups which share striking characteristics:

They are large intracellular parasites, responsible for diverse, spontaneous, generalized or local, clinical or latent infections in man, birds, and mammals. They are readily stained by basophilic dyes. They are antigenically related, as evidenced in the complement fixation, cross immunity, and toxin neutralization tests. They are, with one exception, capable of producing pneumonitis in the laboratory mouse when introduced by the intranasal route. They grow well in the yolk sac of the embryonated egg. They are susceptible to the action of certain drugs. The usual infections are probably latent; among susceptible species infection may be commonplace, initially taking place in the young. Mortality rates vary; epidemics sometimes occur. More often the tendency is recovery, with the development

* George Williams Hooper Foundation, University of California, School of Medicine, San Francisco.

[1] K. F. Meyer, Ann. N. Y. Acad. Sci. *56*, 545 (1953).

[2] E. Weiss, Ann. Rev. Microbiol. *9*, 227 (1955).

[3] H. A. Wenner, Advanc. Virus Res. *5*, 39 (1958).

[4] K. F. Meyer and B. Eddie, Chapter 6 in *Progress in Psittacosis Research and Control* (Ed. by F. R. Beaudette, Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey, 1958), p. 52.

[5] S. P. Bedson, J. R. Inst. Pub. Health Hyg. *22*, 67, 99, 131 (1959).

of some immunity after the benign illness or inapparent infection. Immunity is seldom absolute and fully virulent or weakly virulent Bedsonias survive in varying, usually small, numbers in tissues of the host. In the usual host species, after infection the virus persists in reticulo-endothelial cells, suggesting a parasitic partnership in existence for a long evolutionary period. It may remain confined to the internal organs until either some unusual stress on the host or vitality of the parasite, when it may find its way through excreta to a new host. Whenever the stability is disturbed, for whatever reason – starvation, crowding, breeding, illness – the virus may multiply and find release to the external environment. Large reservoirs can be assumed to exist in nature; the balanced partnership between the psittacosis-ornithosis viruses and their avian hosts suggests this. Either acutely ill, or more frequently inapparently infected, hosts potentially threaten the health and welfare of several known species of animals, including man, and possibly others yet undiscovered.

Ecology of Human Bedsonia Infection

The Bedsonias were first recognized over 50 years ago, when Halberstaedter and von Prowazek made their classical observation on trachoma in Java. By direct transmission of conjunctival scrapings from man, they succeeded in infecting orang utans; in the scrapings from these animals and from patients they noted the epithelial cell inclusions with which their names are now associated. With great perspicacity these workers suggested that the inclusion bodies represent intracellular colonies of the causal agent. These early morphologic studies led to recognition of another form of inclusions, the initial bodies, which Lindner regarded as an early stage in the development of the mature Halberstaedter-Prowazek-Körper. The significance of these early studies on trachoma became more clear when Bedson, Bland, and Canti proved that the obligate intracellular parasites causing avian and human psittacosis develop through a complex series of morphologic changes. Observations with the light microscope suggested binary fission as the mode of reproduction. Thygeson, studying trachoma, made observations similar to those of Halberstaedter and von Prowazek and of Lindner and reemphasized the initial body that matures to a mass of elementary bodies. Quite recently Litwin[6], in an excellent study on the morphology of the growth cycle of a mammalian member of the Bedsonia group, the feline pneumonitis virus, in the chorioallantoic ectoderm of chick embryos with respect to infectivity, elementary particle counts in light and electron microscopy, has furnished an explanation of the early studies with the trachoma inclusion bodies: Early and late phases of the obligate intracellular growth cycle are analogous to those of bacteria, and the trachoma psittacosis-lymphogranuloma viruses multiply by binary fission. The causative agents of trachoma and of inclusion conjunctivitis from infections in China, Gambia, Saudi Arabia, Egypt, and the U.S.A. have been propagated in the yolk sac of embryonated eggs 6- to 8-days old (Collier[7]). Further evidence has been furnished that the trachoma virus belongs to the Bedsonia group. Bell *et al.* have shown that the intravenous inoculation of concentrated viable elementary bodies of trachoma are toxic to mice. This observation recalls the historically interesting fact that the existence of thermolabile endotoxin in a member of this group was first recognized in lymphogranuloma venereum.

How did the LGV virus find its place in the Bedsonia group? Again, through morphologic studies. Gamma recognized large cytoplasmic bodies in cells from infected lymph nodes, and a few years later Gay Prieto described small corpuscles differing from the Gamma-Favre bodies. By showing some of the cytoplasmic corpuscles to be Castaneda-positive, Findlay proved more conclusively than Gay Prieto the relationship of these bodies to the infective agent in the pus of climatic buboes. A few years before, Hellerström and Wassén had produced a bacteria-free meningitis in rhesus monkeys by injecting bubo pus. Miyagawa *et al.* demonstrated, in filtration experiments, that the presence of these bodies paralleled infectivity, a fact already by then established for the prototype of the Bedsonia group – the psittacosis virus. Findlay *et al.*, and later Rake and Jones, suggested a possible cycle of development similar to that described for trachoma and the psittacosis viruses. This relationship was confirmed further when the LGV virus grew luxuriantly in the embryonated hen egg. Its host range in experimental infections was broader than that of trachoma, but narrower than that of the psittacosis virus. Few strains isolated from human material, with or without monkey passage, induce fatal meningitis in mice on intracerebral inoculation. Variations in virulence of Bedsonias was also first recognized for the LGV virus.

The third Bedsonia infection host specific to man, inclusion conjunctivitis, is transmitted through venereal contact. It is from the genital sources that the acute self-limiting infection of the conjunctiva arise.

Trachoma, lymphogranuloma venereum, and inclusion conjunctivitis all suggest that the parasitism that they represent is of long standing in the human host. The flare-ups do not have the violence of the usual reaction of a host encountering a new parasite.

It is not certain whether pneumonitis should be included as a fourth human-host-specific Bedsonia infection. Transmission from one human being to another

[6] J. Litwin, J. infect. Dis. *105*, 129 (1959).
[7] L. H. Collier, Brit. med. Bull. *15*, 231 (1959).

has been considered supportive, but the outbreaks have been few, the mortality rates high, the origin focal, and the spread slow and not far.

In the spring of 1940 a man died in a hospital in San Francisco 17 days after onset of bronchopneumonia. Three nurses attending this patient became similarly ill 17 to 19 days later, bronchopneumonia intervened, and after a stormy course two of these nurses died. The remaining nurse recovered slowly. Two laboratory workers who tested tissues from these patients for virus contracted a similar disease and recovered. The isolated strain, known as the S. F. strain of human pneumonitis virus, exhibited one puzzling characteristic: it failed to infect mice when injected intravenously but had a highly active heatlabile endotoxin.

A severe outbreak of pneumonitis in the Louisiana bayous was transmitted from person to person, spreading among attendants in fatal cases and only to those in attendance within 48 h of death of the patients. A highly toxic virus pathogenic for several species of mammals, including guinea pigs, and birds was isolated from sputum and blood in two fatal cases. That these illnesses could have originated in some extrahuman source, possibly egrets, has recently been suggested by Treuting, one of the investigators of the outbreaks.

The third episode of apparent person-to-person transmission was reported from Chicago in 1944. Two men, a physician and a dental student, contracted an illness similar to those in the Louisiana outbreak. The agent isolated from the lungs of the patients, to become known as the Illinois human pneumonitis virus, on the basis of toxin neutralization tests, resembles the Louisiana strain.

In recent years there have been no reports of pneumonitis outbreaks from Louisiana, despite some discovered reservoirs in nature and the unchanged life habits and customs of bayou residents. One may speculate that the infection does occur, but is unrecognized, since it is not distinguishable clinically from other virus pneumonias or minor respiratory ailments and could be expected to respond to antimicrobial therapy as they do. Or that the kaleidoscope turned and some peculiar host-parasite relationship fell into place, producing in three different localities of the United States fatal bronchopneumonia caused by Bedsonias of exalted virulence. That secondary cases arose through personal contact points up the communicability of these viruses by the respiratory route in the late stage. Such outbreaks have occurred elsewhere and at other times. In several the initial illness was conclusively proven to have originated from extrahuman (avian) sources. Despite extensive surveys in the period before antibiotic therapy came into use proof could not be secured to support the hypothesis that aside from trachoma, lymphogranuloma venereum, and inclusion conjunctivitis, a specific human pneumonitis virus exists and may be exchanged from person to person. The hypothesis overlooks that the strains passed only from fatally infected patients and then only late in the course. This suggests an avian strain of unusually high virulence meeting man for the first time. Effective treatment seems to prevent this type of spread. The reported transmissions from person to person from 1899 to 1945 were of viruses of psittacine origin, more recently of columban origin.

The discovery of complement fixation reactions with the common group antigen in the course of serum surveys, for example in those in Holland and Scandinavian countries where lymphogranuloma venereum is rare, can justifiably be used to support the idea that human pneumonitis Bedsonia viruses exist. But careful studies in rural and some urban areas indicate that many extrahuman sources could account for these subclinical infections. So far as is known now, one must still look for birds, including poultry, as the source of most human psittacosis.

Relation of Avian Bedsonias to Human Disease

In 1929–30, psittacosis was widespread in Europe and America due to the dissemination of a large collection of infected Amazon parrots, and the interest aroused by more than 700 cases of what had previously been regarded as an exceedingly rare disease led to careful investigations and to isolation of the virus which is the prototype of the Bedsonia group. Within the next few years investigations showed that most of the sporadic human cases and small outbreaks affected people in contact with the parakeet (*Melopsittacus undulatus*), a native of Australia, rather than with the South American parrot. Through the years the abundant growth of the trade in parakeets has increased the incidence of psittacosis. Wherever these cage birds are bred and raised – in the United States, Germany, Japan, the Netherlands, Switzerland, Great Britain – they are the principal sources of this infection. The epizootiology of psittacosis in aviary-bred parakeets, seagulls (petrels), and pigeons is fairly well understood: the continuity of the virus's survival is perpetuated in the nest. In observations in Australia there is good evidence of fatal and nonfatal epizootics in wild parrots. The highly virulent strain responsible for the 1938–39 fatal epidemics was transmitted from one species to another, but the 1957 nonfatal epizootic did not seem to affect other species. Of 98 species of birds belonging to 9 orders, 20 families, and 62 genera found to be naturally infected, only 57 were psittacine (Meyer[8]).

To protect man against psittacosis, quarantine has been adopted, but large and small psittacine and other

[8] K. F. Meyer, Chapter 22 in, *Diseases of Poultry* (Ed. by H. E. Biester and L. H. Schwarte, Iowa State College Press, Ames 1959), p. 504.

cage birds are being smuggled into the United States to meet the popular demand, especially for Panama and Amazon parrots and cockatoos. In extensive field trials with tetracycline compounds, multiplication of the virus in the tissues of the birds has been stopped, and most birds have rid themselves of any virus on hand. Thus it seems possible to hope to import or to raise Bedsonia-free cage birds.

Preoccupation with the psittacine aspect has recently been distracted by the infection in poultry. The participation of pigeons, chickens, ducks, geese, pheasants, and particularly turkeys in the maintenance of this virus and in causing human infections has been recognized.

Pneumonitis (487 cases, 11 deaths) has broken out in poultry plants in Texas, New Jersey, Oregon, Wisconsin, British Columbia, where adult turkeys were processed for market. These occupational infections concern several groups, both physically and financially, and ornithosis in turkeys has become a subject of some intensive studies. Where turkeys were observed to have gross anatomical lesions on the viscera (plastic exudate over the liver, air sacs, and heart, teeming with Bedsonia elementary bodies highly virulent for mice), mild to frank clinical attack rates among the exposed workers have ranged from 20 to 70%. The disease is not always benign, as the case fatality rate (2·6%) indicates. Delay in treatment, the use of ineffective antimicrobial drugs (penicillin is not effective) and complications such as hepatitis and myocarditis in older people were responsible for the deaths. The ornithosis virus is destroyed within $3^1/_2$–5 min at 56°C, so that after proper cooking the carcass of the poultry can be considered safe. If turkeys and chickens are incubator-hatched, the virus cannot be perpetuated in the nest as usual. Although on several breeding ranches the infection has reappeared annually as a latent infection in the young birds or poults, it has manifested itself as a frank destructive poultry disease during the breeding and egg laying period. How this happens has not been understood, but in recent studies at the Hooper Foundation, feather mites belonging to the Glyciphagidae, Analgesidae, and Cheyletidae collected from litter or bedding six months after contact with live turkeys or chickens were proven contaminated or infected with Bedsonia agents. Emulsified mites produced nonfatal infections in white mice on intraperitoneal inoculation in the first passage. On further intranasal mouse passage the focal pulmonary areas of consolidation contained typical elementary bodies, and fatal infections were produced on intracerebral or intraperitoneal injection. These have been pathogenic for parakeets and guinea pigs and are antigenically indistinguishable from typical avian Bedsonia. If virus-carrying arthropods survive in the nest, the seasonal recurrence of ornithosis in incubator-hatched poultry could be readily explained.

Ornithosis among pigeons is a common infection causing morbidity but little mortality. The prevalence of isolated infections among pigeon fanciers, owners of lofts or operators of squab farms is amply reflected in recently published records (Meyer[8]). Fatal infections in infants and occasionally in older people who had been spending considerable time in public parks frequented by pigeons and in people in contact with racing pigeons cast suspicion on the vast reservoir of free-flying pigeons as a public health hazard.

Finally, scattered reports from Czechoslovakia, Austria, Germany, Yugoslavia, and U.S.S.R. indicate that ducks and geese can convey psittacosis to man.

Relation of Mammalian Bedsonias to Human Disease

The discovery that viruses of this group can cause disease other than pneumonitis in mammals other than man has been increasingly evident in recent years. The number of species is increasing, and the clinical manifestations more and more various. The mammalian Bedsonias can destroy domesticated animals, and those constituting a distinct hazard in animal economy have been studied to some extent. Whether the so-called meningopneumonitis virus recovered from ferrets inoculated with throat washings obtained from cases of suspected influenza is actually a parasite of this animal must remain unascertained. Pathogenicity and toxin neutralization tests have shown this virus to be related to the pigeon viruses. The murine pneumonitis virus is indigenous to certain stocks of laboratory mice, feline pneumonitis is a highly infectious disease of cats, and the viruses isolated are apparently species specific. Viruses have been isolated from infected opossums (common opossum, *Didelphio paraguayensis;* wooly opossum, *Caluremys laniger;* brown masked opossum, *Metachisus medicaudatus*), but have not been studied extensively. Those isolated from cattle in the United States and Japan, causing diseases described as bovine enteritis, encephalomyelitis, pneumonia, and abortion, may be closely related to each other. The localization in the central nervous system and the pulmonary tissues has been an interesting complication of a more generalized and usually minor infection. Serologic surveys have indicated a fairly widespread infection affecting 8–100% of adult cattle. Enzootic abortion of ewes in Great Britain and the United States occurs during the last 2 or 3 weeks of gestation. The Bedsonia induce pathogenic lesions in the fetal membranes and the aborted fetus, where they are readily demonstrable in large numbers. The pathogenesis is incompletely defined. Whether the same virus causes ovine pneumonitis remains to be learned. Recently reports from Japan describe pneumonitis in goats caused by a Bedsonia. In the biology of this organism found in mammals two facts are outstanding: Most of them are

highly pathogenic to guinea pigs, but rarely for parakeets or ricebirds.

Human infections directly traceable to infected animals are either unrecognized or infrequent or account for some otherwise unexplained serologic reactions. One laboratory infection with the virus of enzootic abortion of ewes and one with that of bovine encephalomyelitis are on record. Feline pneumonitis has been considered a possible source of human pneumonitis. Further evidence that these viruses may cause unrecognized infection in man stem from the occurrence of complement-fixing antibodies among veterinary personnel in stockyards and packing plant employees.

This sketch of the Bedsonia group reveals that they can infect several members of the animal kingdom, including man. They vary in pathogenicity, virulence, and tissue tropism, causing either local or systemic infection. The ecologic relationships pose fascinating questions and offer a fresh challenge to the imagination of the biologist.

Zusammenfassung

Es wird vorgeschlagen, dass die Vertreter der Psittacosis-Lymphogranuloma-Trachoma-Gruppe der Mikrobakterien in Zukunft als *Bedsonia* bezeichnet werden. Die einzelnen Glieder dieser Gruppe erzeugen lokale und systemische Infektionen beim Menschen, Geflügel und einzelnen Säugetieren und nicht nur bei Papageien. Da die Pathogenität, die Virulenz und der Gewebetropismus grosse Unterschiede aufweisen, bietet das ecologische Studium der Infektionen viele anregende Probleme.

Zur Kenntnis des lamellaren Musters in ausgewachsenen und der Kristallgitterstruktur in jungen Chloroplasten

Von E. Heitz*

I. Seit den ersten Arbeiten von Menke[1] in denen er, ausgehend von polarisationsoptischen Untersuchungen im UV-Mikroskop[2] eine lamellare Struktur der Chloroplasten von *Anthoceros* nachweisen konnte, und auch für die Chloroplasten höherer Pflanzen (*Selaginella*, *Phaseolus*) dieselbe Grundstruktur angab, haben nach der Erfindung des Elektronenmikroskops eine ganze Reihe von Autoren diese Befunde an verschiedenen Pflanzen bestätigt und mit Hilfe des viel höheren Auflösungsvermögens dieses Mikroskops und vor allem bei Benutzung der neuen Einbettungs- und Scheidetechnik sehr genaue und in feinste Einzelheiten gehende Aufschlüsse geben können (Cohen und Bowler[3], Hodge, McLean und Mercer[4]; Sager und Palade[5]; Leyon[6], Steinmann und Sjöstrand[7]; Wolken und Palade[8] und andere).

Die von Menke[1] gefundene Grundstruktur, wie sie bei den meisten Algen und dem genannten Lebermoose vorliegt, ist an Schnitten noch wenig, mindestens aber zu wenig genau im einzelnen untersucht worden (bzw. an nicht genügenden Präparaten oder Aufnahmen s. u.). Nur von Wohlfahrt-Botterman[9] wird eine einwandfreie Aufnahme des Chloroplasten einer Dinoflagellate, *Amphidinium elegans*, gegeben (Abb. 1)[10]. Der Verfasser stellt fest, dass bei dieser Alge eine in bezug auf die Anordnung der Lamellen bisher nicht bekannte «Struktur der Chloroplasten» vorliegt. Der Chloroplast besteht hier «aus einer Vielzahl distinkter, parallel verlaufender Lamellenpakete, die sich gesetzmässig jeweils aus 4 Membranen zusammensetzen. Die beiden inneren dieser Membranen sind dicker und kontrastreicher als die beiden äusseren»[11]. Die von Wohlfahrt-Botterman[9] gegebene Abbildung 6c, welche Schnitte durch fast einen ganzen und drei verschieden grosse Stücke von Chloroplasten zeigt, belegt die Gesetzmässigkeit eindeutig. (Lediglich im Chloroplastenstück am rechten Bildrand enden links 4 Lamellenpakete mit zwei äusseren dünnen und nur *einer* von ihnen eingeschlossenen dicken Lamelle; dasselbe erkennt man auf der hier wiedergegebenen Abbildung 1: Etwa 9 Lamellenpakete bestehen aus zwei äusseren dünnen und zwei inneren dicken; bei drei dagegen – mit Pfeilen bezeichnet – ist nur *eine* innere dicke vorhanden.) Hier sei eine Abbildung von Leyon und Wettstein[12] erwähnt. Ich möchte die Äusserung meiner Ansicht nicht unterdrücken, dass die beiden Verfasser auf Grund von besseren Aufnahmen (bzw. Präparaten) zu der Überzeugung hätten kommen müssen, dass bei der untersuchten Braunalge deren Lamellenpakete (von ihnen als grobe Lamellen bezeichnet) nicht aus vier *gleich* dicken

* Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen.

[1] W. Menke, Kolloid-Z. *85*, 256 (1938).

[2] W. Menke, Naturwissenschaften *28*, 158 (1940).

[3] M. Cohen und E. Bowler, Protoplasma *42*, 414 (1953).

[4] J. Hodge, J. McLean und F. Mercer, J. biophysic. biochem. Cytol. *1*, 605 (1955).

[5] R. Sager und G. Palade, J. biophysic. biochem. Cytol. *3*, 463 (1957).

[6] H. Leyon, Svensk kemisk Tidskr. *68*, 70 (1956).

[7] E. Steinmann und F. Sjöstrand, Exp. Cell Res. *8*, 15 (1955).

[8] J. Wolken und G. Palade, Ann. N. Y. Acad. Sci. *56*, 873 (1953).

[9] K. Grell und K. Wohlfarth-Bottermann, Z. Zellforsch. *47*, 7 (1957).

[10] Vgl. Abb. 1; nach einer mir in verdankenswerter Weise von Herrn Dr. Wohlfahrt-Bottermann zur Verfügung gestellten nicht veröffentlichten Originalphotographie.

[11] Gesperrt von Heitz

[12] H. Leyon und D. Wettstein, Z. Naturforsch. *9b* 471 (1954).

feineren Lamellen zusammengesetzt sind, sondern aus zwei äusseren dünnen und zwei inneren dicken. Andeutungen davon finden sich in ihrer Abbildung 4 an mehreren Stellen und besonders in Abbildung 7b und c. Eine erneute Untersuchung wäre wohl der Mühe wert.

Eigene Untersuchungen (die – wie betont sei – nicht der Kritik halber, sondern zu anderen Zwecken unternommen wurden), haben mich davon überzeugt, dass der Wechsel von dünnen und dicken Lamellen, oder sogar der Zusammensetzung derselben zu Lamellenpaketen, bei Chloroplasten welche nur die Grundstruktur besitzen viel häufiger, wenn nicht sogar immer vorkommt. Lefort findet neuerdings alternierende dünne und dicke Lamellen (nach Fixierung mit Permanganat) auch im Chromoplasma verschiedener Cyanophycern (persönliche Mitteilung während Drucklegung der vorliegenden Arbeit).

Im folgenden seien Ergebnisse geschildert, die an *Anthoceros crispulus* und *Chlamydomonas eugametos* erhalten wurden.

Das Lebermoos gleicht bekanntlich in den grossen, in der Einzahl je Zelle vorhandenen Chromatophoren und den darin liegenden Pyrenoiden manchen Algen. Dazu kommen die nach Menke[1] den ganzen Chloroplasten durchziehenden Lamellen, neuerdings von Chardard[13] sowie Kaja[14] elektronenmikroskopisch auch an Schnitten festgestellt. In der Arbeit von Chardard[13] finden sich vereinzelt Stellen in den Abbildungen, bei deren Betrachtung man auf das Vorkommen von dünnen neben dicken Lamellen hätte schliessen können (in der Arbeit von Kaja[14] allerdings nicht). Wie die Abbildungen 4, 5 und 6 zeigen, liegen die diesbezüglichen Verhältnisse eindeutig. Zwecks Raumersparnis wurden hier nur kleine Stücke eines einzigen Chloroplasten bei geringer Nachvergrösserung reproduziert. Lamellenpakete mit *einer* inneren dicken und zwei äusseren dünnen Lamellen wiegen vor. In Abbildung 4 sind etwas unterhalb der Mitte und am rechten Rand unten 3 dicke und 2 dünne, bzw. 5 dicke und 2 dünne, in Abbildung 6 besonders eindeutig zwei Lamellenpakete aus 1 dicken und 2 dünnen Lamellen zu sehen. Die Abwechslung von dicken und dünnen Lamellen, bzw. die Zusammensetzung von Lamellenpaketen, ist demnach nicht so gesetzmässig wie bei *Amphidinium* und (s.o., wohl auch) *Fucus*.

Bei *Chlamydomonas eugametos* sind ebenfalls, wenn auch nicht in regelmässigem Wechsel, Pakete mit dünneren und dickeren Lamellen vorhanden (Abb. 2 und 3), die mit nur *einer* dicken inneren sind mit Pfeilen bezeichnet, die mit 4 und 3 dicken, inneren Lamellen mit je einer Klammer. In Abbildung 2[15] (Stücke aus demselben Chloroplasten wie Abb. 3) sind 2 dicke mit 2 dünneren Lamellen zusammen häufiger vorhanden. In der Arbeit von Sager und Palade[5] findet man eine Abbildung (Taf. 151, Fig. 9), in welcher von einer paarweisen Zusammenordnung der Lamellen gesprochen wird. Diese Beschreibung ist mir nicht verständlich, denn es sind hier ganz klar zwei Lamellenpakete (durch Pfeile bezeichnet) – jedes derselben deutlich aus zwei dünnen äusseren und einer dicken inneren Lamelle zusammengesetzt – zu sehen. Eine eingehendere Untersuchung des lamellaren Musters bei Chlamydomonaschloroplasten ist in Aussicht genommen.

Während bei *Anthoceros* und vielen Algen die Chloroplasten von Lamellen oder Lamellenpaketen durchzogen sind, liegen bei fast allen Moosen, Farnen und Phanerogamen die Verhältnisse komplizierter. Hier wurde, ausser den bei Algen nachgewiesenen Lamellen (bei höheren Pflanzen als Stromalamellen bezeichnet), noch eine weitere Lamellierung der Chlorophyllscheiben (Grana), welche parallel zur Chloroplastenoberfläche liegen (Heitz[16]), gefunden (erstmals Frey-Wyssling und Mühlethaler[17]). Den Zusammenhang dieser «Grana»-Lamellen mit den Stromalamellen haben dann Cohen und Bowler[3] aufgezeigt. Hierauf wird unten zurückzukommen sein. Dieses lamellare Muster der Chloroplasten ist in den letzten Jahren oft untersucht und abgebildet worden und findet sich auch in Keimblättern und in ergrünten Wurzeln nach Belichtung (Abb. 7).

Sehr oft ist der Zusammenschluss von je zwei benachbarten Granalamellen zu einer flachen Kapsel, an die nur eine, vor dem Zusammenschluss mit der Granalamelle sich gabelnde Stromalamelle anschliesst (Hodge[4] bei *Zea Mais*) oder zwei Stromalamellen (Steinmann[7] bei *Aspidistra*). Es scheint nicht gesichert, welches der beiden Schemata Gültigkeit besitzt, nicht einmal, ob es wenigstens für die untersuchte Pflanze gilt. Denn zu oft müssen einige wenige klare Stellen in den Abbildungen zur Aufstellung des Schema herhalten,

[13] R. Chardard, Rev. Cytol., Paris *18*, 359 (1957).

[14] H. Kaja, Ber. Dtsch. Bot. Ges. *70*, 343 (1957).

[15] Die 4 Striche in Abb. 2 weisen auf 4 kugelige Gebilde in einer dicken Lamelle hin, die möglicherweise Makromoleküle sind; die Keilstriche auf Stellen, an denen 2 dünne Lamellen sich zu einer dicken «zusammenlegen», bzw. eine dicke Lamelle sich in 2 dünne «aufteilt».

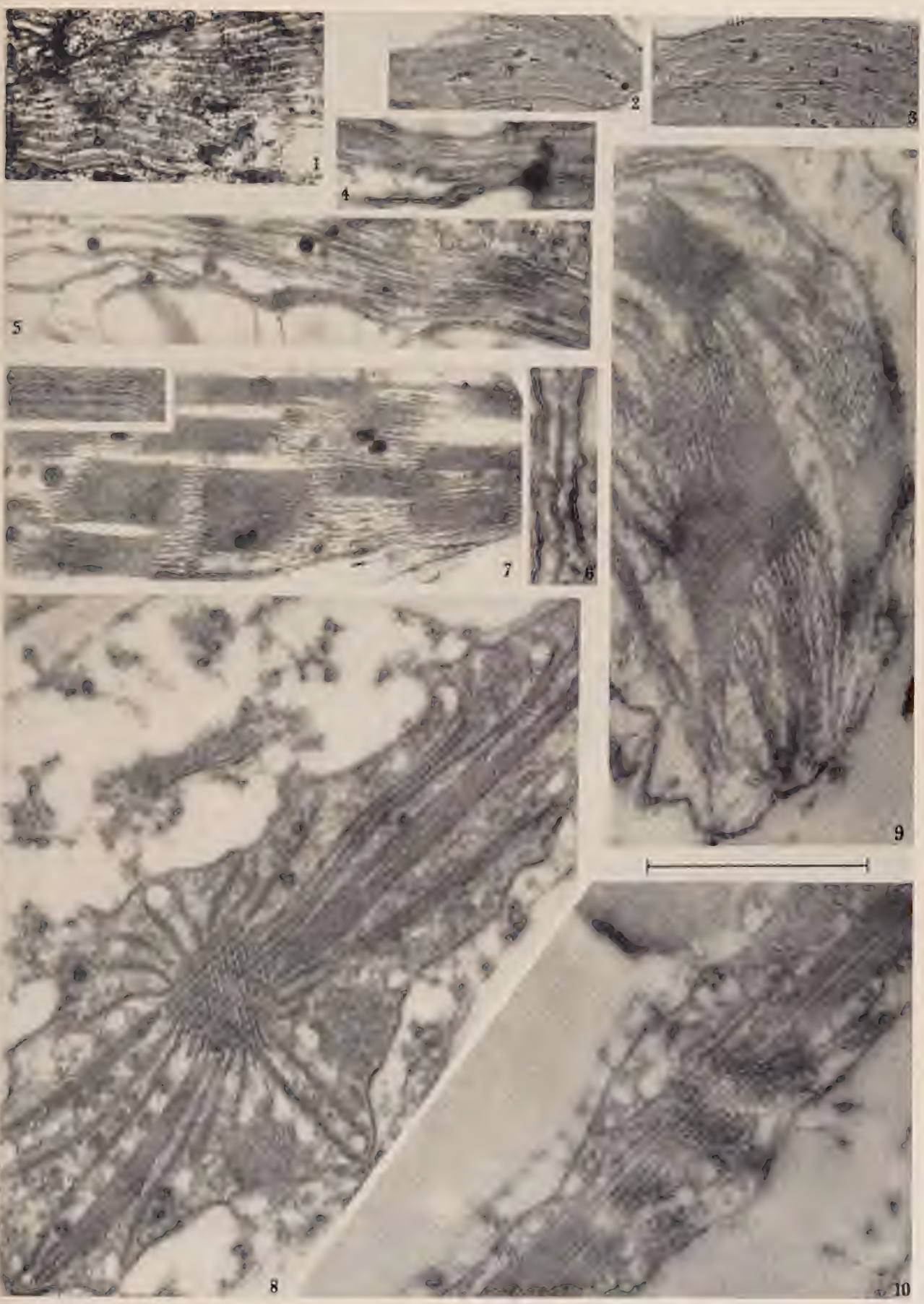
[16] E. Heitz, Arch. wiss. Bot. *26*, 134 (1936).

[17] A. Frey-Wyssling und K. Mühlethaler, Vjschr. naturf. Ges. Zürich *94*, 179 (1949).

Abb. 1–7: Stücke aus dem lamellaren Muster in fertig ausgebildeten Chloroplasten niederer und höherer Pflanzen. Abb. 1. *Amphidinium elegans* (Dinoflagellat). Abb. 2 und 3. *Chlamydomonas eugametos* (Volvocales), 2 Stücke aus demselben Chloroplasten und demselben Schnitt. Abb. 4–6. *Anthoceros crispulus* (Lebermoos), wie in beiden vorhergehenden Abbildungen, 3 Stücke aus *einem* Chloroplasten und Schnitt. Abb. 7. Einsatz links oben *Fagus silvatica* (Dikotyle), einzelnes Granum aus fertig ausgebildetem Keimblatt; *Eranthemum leuconeurum* (Dikotyle), lamellares Muster aus einer am Licht ergrünten Regenerationswurzel.

Abb. 8–10: Kristallgitterstruktur in noch nicht fertig ausgebildeten Chloroplasten junger Blätter. Abb. 8 und 10. *Selaginella* spec. (Pteridophyte, Lycopodinae). Abb. 9. *Eranthemum leuconeurum*.

Vergrösserungen: Abb. 1 elektronenmikr. 13800, auf ca. 40000 nachvergr. (nach einer von Wohlfahrth-Botterman zur Verfügung gestellten Aufnahme). Die Abbildungen 2 und 3 elektronenmikr. 10000, auf 40000 nachvergrössert, Abb. 4–8 und 10 elektronenmikr. 20000, auf 40000 nachvergrössert. Für die Abb. 2–8 und 10 gilt der über Abb. 10 eingetragene Maßstab = 1 μ. Abb. 9 elektronenmikr. 14500, auf 58000 nachvergrössert.


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

und es müssen weniger klare zur Deutung herangezogen werden. Es scheint sogar, dass nicht nur bei ein- und derselben Pflanze verschiedene Möglichkeiten des Zusammenschlusses der Grana- mit den Stromalamellen vorkommen, sondern sogar bei ein- und demselben Chloroplasten. Weitere sehr genaue Untersuchungen sind dringend erforderlich.

Während bisher immer ein Zusammenschluss von Stromalamellen mit den Granalamellen beobachtet worden ist, konnte Heitz[18,19] bei dem Lebermoos *Riccardia pinguis* sowie Lefort[20] bei *Solanum lycopersicum* Stromalamellen als *solche* in den Grana nachweisen. (Abb. 7, Einsatz links oben: Von den zwei dünnen, die fünf dicken Lamellen begrenzenden, ist die obere nach rechts hin als Stromalamelle zu erkennen.) Häufig jedoch setzen sich diese zwei Lamellen nicht im Stroma fort, sondern sind mit der darunterliegenden dicken Granalamelle verbunden, mit dieser eine flache Kapsel bildend (auch Abb. 7: die grössere Figur rechts des Einsatzes zeigt deutlich die oben und unten, dünnen und weniger dichten, die Granalamellen begrenzenden Lamellen). Diese zwei dünnen, das Granum begrenzenden Lamellen, sind zwar in den Abbildungen mancher Autoren vorhanden, von diesen aber nicht gesehen und nicht erwähnt, oder der Erwähnung nicht Wert gehalten worden (gleichgültig, ob sie mit der darunterliegenden Granalamelle zusammengeschlossen sind oder getrennt als Stromalamellen auftreten). In den folgenden Abbildungen sind sie manchmal weniger deutlich, oft aber ganz klar zu erkennen: Buvat[21] bei *Elodea canadensis* auf Tafel XXI, Fig. 2 besonders klar; auch auf Tafel XVI, Fig. 1 der oberste Chloroplast und auf Tafel XIX; dann Lance[22] bei *Chrysanthemum segetum* auf den Tafeln VII, IX, XII, hier in beiden Figuren besonders eindeutig, und auch auf Tafel XIII. Ferner auf den Tafeln einer soeben erschienenen Arbeit von Mühlethaler und Frey-Wyssling[23], Tafel 244, Abbildung 3 links unten im Chloroplast und besonders auf Tafel 245 sind sie in mindestens neun gut ausgebildeten Grana klar als dünnere Lamellen zu erkennen; bei 7–8 der abschliessenden, darunter liegenden Granalamellen bilden sie durch Zusammenschluss mit diesen die flachen Kapseln, bei 3–4 setzen sie sich gesondert als dünne Lamelle in das Stroma fort (vgl. unsere Abb. 7, Einsatz, für *Fagus*). Schliesslich noch bei James[24] (kein Cytologe) bei einem Chloroplast der Bohne (*Phaseolus* oder *Vicia*?) in seiner Abbildung 3 links oben, ganz eindeutig; in dem unteren Granum (mit 4 dicken Lamellen) ist die dünne nach rechts gesondert sich fortsetzend als Stromalamelle erkennbar. Man vergleiche auch die Figuren[15] und auch[17] (*Picea*) bei v. Wettstein[37]. Diese Belege aus fünf Arbeiten sind umso wertvoller, weil sie von den Verfassern nicht zur Demonstration der zwei dünnen Lamellen besonders ausgesucht sein können. Die Beantwortung der Frage, ob die Begrenzung des Granum durch oberhalb und unterhalb liegende dünnere und weniger dichte Lamellen allgemein bei Grana besitzenden Chloroplasten vorkommt, werden weitere Untersuchungen zeigen müssen. Sollte das, wie zu erwarten ist, der Fall sein, dann wird man mit Recht die allerdings schwer zu beantwortende Frage stellen, welche Bedeutung diesen Lamellen zukommt. Diese Frage besteht natürlich auch bezüglich der dünnen Lamellen, welche bei Algen vorhanden sind. Seit den fluoreszenzmikroskopischen Feststellungen von Heitz[16], Bestätigung durch Metzner[25] und andere, weiss man, dass zumindest die Hauptmenge des Chlorophylls in den Grana enthalten ist, und es wird meistens die Ansicht vertreten, dass der eigentliche Sitz dieses Farbstoffes in den Granalamellen zu suchen ist. Da der Raum zwischen den Grana (das Stroma) keine Spur von Fluoreszenz zeigt, wäre bei Grana führenden Chloroplasten in den Stromalamellen kein Chlorophyll vorhanden, dagegen müssten die Lamellen der Algenchloroplasten solches enthalten, und es müsste auch, wenn wir uns den Befunden von Hodge[4] anschliessen, der festgestellt hat, dass die grünen Chloroplasten der Gefässbündel-Parenchymscheiden bei *Zea Mais* nur Stromalamellen aber keine Grana besitzen, in ersteren das Chlorophyll enthalten sein. Die Frage stellt sich demnach, ob die dünnen Grana begrenzenden Lamellen Chlorophyll führen oder nicht, nicht zu reden von der Frage, ob ihnen in irgend einer Weise eine Funktion bei der CO_2-Assimilation zukommt.

II. Strugger[26] hat erstmals nachgewiesen, dass embryonale Plastiden (Proplastiden wie sie schon vor 31 Jahren Bowen genannt hat) der Sprossvegetationspunkte nur ein einziges Granum besitzen. Er hat es als Primärgranum bezeichnet, weil er der Ansicht war, dass aus diesem durch wiederholte flächenhafte Reduplikation alle späteren Grana eines Chloroplasten hervorgehen. Seitdem aber Heitz[27] sowie Leyon[28] fanden, dass das Primärgranum aus Kristallgitterstrukturen besteht, die meistens in verschiedenen Ebenen liegen, und Leyon eine enge räumliche Verbindung zwischen den Elementarteilen des Kristalloids und Lamellen (wie sie in fertig ausgebildeten Chloroplasten vorhanden sind) feststellte, lag der Gedanke nahe, dass zwischen der Kristallgitterstruktur und der Bildung von Lamellen ein enger Zusammenhang besteht, zumal auch Chloroplasten gefunden wurden, die

[18] E. Heitz, Z. Naturforsch. *12b*, 811 (1957).
[19] E. Heitz, Internat. Conference on Electronmicroscopy 1958, Verhandlungen *2*, 501 (1960, Springer Verlag).
[20] M. Lefort, C. r. S. Acad. Sci. *245*, 718 (1957–1958).
[21] R. Buvat, Ann. Sci. Nat. Bot. *11*, 121 (1958).
[22] A. Lance, Ann. Sci. Nat. Bot. *11*, 165 (1958).
[23] K. Mühlethaler und A. Frey-Wyssling, J. biophys. biochem. Cytol. *6*, 507 (1959).
[24] W. James, *Botany – here and now* (Mod. Book. Co. London 1959), p. 91.
[25] P. Metzner, Ber. dtsch. bot. Ges. *55*, 16 (1937).
[26] S. Strugger, Nat. Wissensch. *37*, 166 (1950).
[27] E. Heitz, Exp. Cell Res. *7*, 606 (1954).
[28] H. Leyon, Exp. Cell Res. *7*, 609 (1954).

nur ein Kristalloid, aber noch keine Lamellen besitzen Heitz[27].

In den letzten Jahren hat sich ausser Mühlethaler *et al.*[29,30] besonders eingehend Hodge[31] um Aufklärung über die Entstehung von Grana- und Stromalamellen bemüht. Einmal handelt es sich um die Frage, in welcher Weise die Lamellen aus der Kristallgitterstruktur (dem «prolamellar body» mit der Bezeichnung von Hodge, «centre plastidial» nach Lefort) sich bilden; dann darum, wie sich der Vorgang ohne dieselbe abspielt. Schon Leyon[36] hat, bevor der kristalloide Körper bekannt wurde, in sehr jungen Chloroplasten einen Haufen von unregelmässig liegenden Globuli oder Blastulae beschrieben, von welchen aus sich die jungen Lamellen bilden. Die Abbildungen, welche Mühlethaler[29] (Abb. 12 und 13) als Belege gibt, entsprechen vollkommen denen von Leyon bei derselben Pflanze (*Aspidistra*). Auch Lefort[30] bildet für *Elodea canadensis* ganz dieselben Stadien ab und Mühlethaler und Frey-Wyssling[23] nochmals dasselbe auch für diese Pflanze. Die hochgeordnete Struktur des prolamellaren Körpers scheint demnach nicht die unbedingte Voraussetzung für das Auftreten der Lamellen zu sein. Nach Lefort sowie Mühlethaler und Frey-Wyssling ist die Ausbildung der Kristallgitterstruktur vom Licht abhängig. Oft genügt offenbar schon die dichte Umhüllung mit jungen Blättchen um eine solche zu verhindern. In den einschlägigen Arbeiten findet man immer wieder die Angabe, dass bei der Ausbildung der Lamellen der prolamellare Körper allmählich verschwindet. Zum Beispiel Perner[32]: «Das Primärgranum geht schliesslich in der Ausbildung der Stromalamellen auf.» Dies trifft jedoch durchaus nicht immer zu, wie unsere Abbildungen 8 und 9 zeigen: Trotzdem in beiden Chloroplasten schon zahlreiche Stromalamellen ausgebildet wurden, sind die Kristalloide noch unversehrt vorhanden. Man sollte doch wohl in diesen Stadien schon eine Rückbildung des Kristalloids wahrnehmen können.

Es sei nun zunächst zu der Frage übergegangen, wie sich die Lamellen unabhängig von dem prolamellaren Körper ausbilden. Hodge[31] hat im Gefässbündelparenchym bei *Zea Mais* (in welchem die Chloroplasten nur Stromalamellen ausbilden) in der peripheren Region nah zusammenliegende, dünne und wenig dichte (faint) Lamellen festgestellt und die Vermutung geäussert, dass in der peripheren Region die Bildung der Lamellen stattfinden könnte. Auch bei der Ergrünung vorher in Dunkelheit etiolierter Maisblätter nach Belichten verfolgt er die Entstehung von Lamellen, die zum Teil vom prolamellaren Körper (der bei etiolierten Pflanzen ungewöhnlich gross gefunden wird, bei Belichtung sich jedoch verkleinert) ausgeht, auf jeden Fall durch Verschmelzung von Bläschen des prolamellaren Körpers zustande kommt. Auf diese Weise soll auch bei Lamellenbildung in der peripheren Chloroplastenregion miteinander verschmelzende Bläschen das Wesentliche sein. Hodge geht dabei vom Bau des endoplasmatischen Reticulum aus, in dem bereits ausgebildete Doppellamellen Bläschen peripher auf- und auch seitlich anliegen. Die Aufliegenden sind bereits in einer Ebene angeordnet, und es ist ohne weiteres einzusehen, dass bei der gegenseitigen Verschmelzung eine Doppellamelle gebildet werden muss. Die Vorstellung wurde von Heitz[33] übernommen, um die Entstehung von Lamellen der Proplastiden in den Wurzelmeristemen von *Zea Mais* und *Vicia* zu verstehen, allerdings mit dem Vorbehalt, dass man die Verhältnisse noch eingehender untersuchen müsse, bevor man sie als Stütze für die Auffassung von Hodge ansehen könne. Die eingehende Beschäftigung mit der Bildung der Chondriosomentubuli durch Einstülpung der inneren Chondriosomenmembran liess aber Zweifel aufkommen und noch stärker werden als ich mit der Arbeit von Mühlethaler und Frey-Wyssling[23] bekannt geworden war. Die Verfasser geben an (grundsätzlich wie Hodge und im Anschluss an ihn), dass bei der Lamellenbildung die Verschmelzung von Bläschen die wesentliche Rolle spielt. Sie haben ausserdem festgestellt, dass in jungen Proplastiden, die bereits eine doppelte Membran besitzen, die innere sich genau wie bei einem pflanzlichen Chondriosom einstülpen soll[34] und es so zu einer doppelten Membran kommen müsse. Das trifft aber keinesfalls zu. Es wurde von Heitz[35] ausführlich auseinandergesetzt: bei einem Vergleich mit tierischen Chromosomen, die bekanntlich Cristae und keine Tubuli wie die pfanzlichen Chondriosomen besitzen, muss hier die Einstülpung nicht nur an einer kleinen, durch einen Kreis begrenzten Stelle, sondern in einer ebenen Fläche stattfinden, denn nur so können Cristae, und ganz entsprechend nur so Doppellamellen der Chloroplasten entstehen. Die Abbildungen der beiden Autoren bringen aber keinen Beleg dafür, dass dies in der eben angegebenen Weise geschieht. Diese Kritik gilt selbstverständlich genau so für meine Auffassung wie die von Hodge zuerst gebildete und von uns übernommene. Es ist nirgends ein Beleg vorhanden, dass Röhren die durch Verschmelzung von Bläschen entstanden sind, in einer Ebene liegend wieder untereinander verschmelzen. Die Vorstellung von Hodge, dass auf Grund der bereits in einer Ebene liegenden Bläschen des endoplasmatischen Reticulum diese durch Verschmelzung eine Doppellamelle geben *müssen*, ist richtig, aber der Beweis, dass die Doppellamellen durch

[29] K. Mühlethaler, Protoplasma *45*, 264 (1955).
[30] M. Lefort, Rev. gén. Bot. *66*, 1 (1959).
[31] A. Hodge, J. McLean und F. Mercer, J. biophys. biochem. Cytol. *2*, 597 (1956).
[32] E. Perner, Z. Naturforsch. *11b*, 560 (1956).
[33] E. Heitz, Z. Naturforsch. *12b*, 283 (1957).
[34] Es liegt nicht im Rahmen dieser Arbeit, in eine Diskussion über dieses Ergebnis von Mühlethaler und Frey-Wyssling einzutreten.
[35] E. Heitz, Z. Naturforsch. *12b*, 576 (1957).
[36] H. Leyon, Exp. Cell Res. *7*, 265 (1954).
[37] D. v. Wettstein, Brookhaven Symp. in Biol. *11*, 138 (1958).

Verschmelzung aus den nicht geordnet liegenden Bläschen des nichtkristalloiden prolamellaren Körpers zu einer Doppellamelle entsprechend verschmelzen, muss erst erbracht werden.

Wenn nur ein einziges, regelmässiges Kristallgitter vorhanden wäre, bei dem die Bläschen in geordneten Ebenen liegen, wie das in den Abbildungen 8 und 10 der Fall ist, wäre die Sache einfach, aber viel häufiger sind eben, wie in Abbildung 9 bei *Eranthemum*, Gitter in verschiedenen Ebenen (wie bereits bei *Chlorophytum* von Heitz, sowie Leyon[36] festgestellt) vorhanden.

Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der ich bestens danke, ebenso den technischen Assistentinnen Frl. Dörmer und Frl. Schäfer.

Summary

(1) It is shown that in the chloroplasts of *Chlamydomonas* and *Anthoceros* thick, dense lamellae and thin, less dense lamellae alternate. (2) In the chloroplasts of many phanerogame plants with grana, thin less dense lamellae limit the parcel of thick grana-lamellae above and below. Since the differentiations 1 and 2 are present in the photographs of many publications (although not mentioned), it is suggested that this kind of lamellar-model has often been overlooked until now. – The «Kristallgitterstruktur» has been found in a cryptogamous plant, *Selaginella*, in young chloroplasts, for the first time. The connection between the elementary particles of the crystal-lattice and the young lamellae has been verified again. – The possibility of formation of double lamellae by fusion of blastulae or tubuli is discussed in detail.

Sur le rôle de la sélection sexuelle dans l'évolution

Par E. Bösiger*

Le problème de l'espèce est à l'origine de la zoologie. Il fut pendant longtemps son seul objet et il suscite encore de nos jours des discussions passionnées. L'espèce est même devenue dans les dernières décennies une des préoccupations majeures de la génétique des populations. De nombreux travaux ont révélé la grande variabilité génétique des populations naturelles de plantes et d'animaux. Ces quelques lignes sont consacrées à la sélection sexuelle, qui est un facteur conservateur, empêchant un mélange illimité des génomes des différentes espèces, mais qui est également considéré comme un des principaux mécanismes de la formation de nouvelles espèces.

Konrad Gesner qui étudia la philologie, les sciences naturelles et la médecine à Strasbourg, Bourges, Paris, Bâle et Montpellier, n'est pas seulement le fondateur de la bibliographie, mais aussi le premier zoologiste du temps moderne, qui osa baser dans son *Historiae animalium libri* dès 1551 les descriptions d'animaux sur ses propres observations plutôt que sur la compilation des auteurs de l'antiquité. Ainsi Gesner a été amené à décrire des variétés en dehors des espèces, d'envisager le groupement des espèces selon la ressemblance de leurs caractères en genres et classes pour établir un système naturel, sans toutefois avoir réalisé ce projet.

Notons en passant que le botaniste bâlois Bauhin a élaboré dans son *Pinax theatri botanici* (édité en 1623 à Bâle), un système naturel des plantes qui tient compte des ressemblances, en créant la nomenclature binaire bien avant Linné.

Jean Lamarck exprime dans sa *Philosophie zoologique* sa conviction, qu'on observerait une transition continue d'une espèce à l'autre, si les collections d'animaux n'étaient pas si incomplètes. Et il ajoute que les espèces ne peuvent pas rester immuables pendant de longues périodes, parce qu'elles se transforment sous l'influence du milieu, et parce qu'elles se croisent et forment des hybrides:

«L'idée d'embrasser, sous le nom d'espèces, une collection d'individus semblables, qui se perpétuent les mêmes par la génération et qui ont ainsi existé les mêmes aussi anciennement que la nature, emportait la nécéssité que les individus d'une même espèce ne pussent point s'allier, dans leurs actes de génération, avec des individus d'une espèce différente.

Malheureusement l'observation a prouvé et prouve encore tous les jours que cette considération n'est nullement fondée; car les hybrides, très communes parmi les végétaux, et les accouplements, qu'on remarque souvent entre les individus d'espèces fort différentes parmi les animaux, ont fait voir que les limites entre ces espèces prétendues constantes n'étaient pas aussi solides qu'on l'a imaginé.»

Lamarck a clairement défini le rôle que l'isolement sexuel pourrait jouer dans la conservation des espèces, mais il a supposé que les échanges de patrimoines héréditaires par hybridation entre espèces sont fréquents et mènent à une diversification presque infinie.

Un demi-siècle plus tard Charles Darwin dans le deuxième volume de son ouvrage sur *La variation chez les animaux et les plantes* attribue à l'isolement sexuel un rôle dans la formation de nouvelles espèces. Il pense qu'une antipathie sexuelle, ou une stérilité réciproque entre deux races différentes pourrait favoriser leur isolement, donc la formation d'espèces distinctes, à l'instar de la technique des éleveurs, qui aboutissent à la création de nouvelles variétés par un choix approprié des reproducteurs. Darwin suppose néanmoins que l'isolement reproductif est une *conséquence* de la différentiation des races par la sélection naturelle, non pas une cause de la spéciation. Si un individu avait une faible

* Laboratoire de Génétique évolutive et de Biométrie du C.N.R.S. à Gif-sur-Yvette, S. et O. (France).

propension à s'accoupler avec un individu d'une autre variété et s'il laissait de ce fait peu de descendants, cela ne pourrait pas constituer un avantage sélectif pour cet individu et contribuer à son maintien par sélection naturelle.

Dans son *Origine des espèces* et surtout dans *L'origine de l'homme et la sélection sexuelle* Darwin étudie un autre aspect de l'isolement reproductif: La compétition sexuelle, surtout celle des mâles pour la possession des femelles. Cette sélection sexuelle est responsable de l'évolution des caractères sexuels secondaires, tels que le plumage et le chant des mâles chez les oiseaux, les armes des mâles chez les insectes et dans d'autres classes d'animaux.

Fort de ses propres observations et de celles d'un grand nombre d'éleveurs, Darwin affirme que selon une grande loi de la nature les animaux ont périodiquement besoin de croisements avec des individus qui n'ont pas une parenté proche pour éviter les effets néfastes d'une série prolongée de croisements consanguins. L'hétérosis, qui fait l'objet de travaux de plus en plus nombreux, est ainsi annoncée par Darwin, qui prévoyait d'emblée les trois aspects de la sélection sexuelle.

Les vérifications expérimentales des hypothèses sur le rôle de la sélection sexuelle, ont presque toutes été faites depuis quelques dizaines d'années seulement par des ornithologues, ou par des généticiens à la suite de l'essor de la génétique des populations.

L'observation minutieuse des parades nuptiales des oiseaux, et de leur comportement en général, a révélé que la majorité des caractères sexuels secondaires ont d'autres fonctions, en dehors de la compétition des mâles pour les femelles. Les couleurs vives, ou le chant du mâle, etc., n'agissent pas exclusivement et même pas en premier lieu dans la compétition sexuelle des mâles, mais sont nécessaires en dehors de toute concurrence entre mâles, pour que la stimulation sexuelle aboutisse à un cycle reproductif normal. Ils servent aussi à conquérir, à signaler et à maintenir un territoire. Ces caractères interviennent en faveur de l'espèce et leur évolution est conditionnée par la sélection naturelle tout court. La sélection sexuelle dans le sens strict du mot n'a pas l'importance que Darwin lui donna. La distinction nette qu'il fit entre la sélection naturelle et la sélection sexuelle ne résiste pas à un examen plus poussé de la question (voir par exemple Huxley[1]).

Isolement sexuel interspécifique: Quand Morgan a choisi la drosophile pour les travaux de génétique, ses collaborateurs Lutz et Sturtevant se servirent aussitôt de ce nouvel animal de laboratoire, si facile à élever et à manipuler, pour étudier l'isolement sexuel dans ce genre. Dès 1920 Sturtevant[2] a montré que les femelles de *Drosophila melanogaster* et de *Drosophila simulans* s'accouplent plus fréquemment avec les mâles de leur propre espèce, quand elles ont le choix entre les deux types de mâles. Depuis, nos connaissances sur l'isolement reproductif interspécifique dans le genre Drosophila ont été considérablement approfondies et élargies, notamment par les écoles de Dobzhansky et de Patterson (voir Patterson et Stone[3]). Il est certain qu'il existe un isolement reproductif plus ou moins prononcé entre différentes espèces et sous-espèces du genre Drosophila. Dans la nature les croisements interspécifiques se produisent rarement; pour certaines espèces jamais. Si on réussit au laboratoire, par la constitution de populations denses ou par des artifices comme par exemple la narcotisation des femelles ou l'ablation de leurs antennes, à obtenir un certain nombre de croisements hétérogames; ceux-ci ne donnent pas de descendance ou des descendants stériles. Il n'y a plus de doute que l'isolement reproductif est une barrière efficace contre l'échange de génomes entre espèces, donc un moyen de préservation de populations spécifiques et distinctes du même genre, qui ont des zones de contact ou habitent les mêmes aires. Dans certains cas l'isolement sexuel est d'autant plus fort, que la provenance géographique des deux espèces est proche (voir Dobzhansky et Koller[4]). Cela pourrait signifier que ce mécanisme d'isolement se trouve renforcé sous la pression de la sélection naturelle. Mais dans d'autres cas on ne retrouve pas cette corrélation et l'isolement est total entre des espèces qui ne couvrent pas les mêmes aires et n'ont aucun contact. Dans ces conditions le mécanisme d'isolement ne peut guère avoir été renforcé par la sélection naturelle.

Sélection sexuelle intraspécifique: Pour éclaircir l'origine des mécanismes d'isolement sexuel et les modalités de la sélection sexuelle Lutz[5] et un peu plus tard Sturtevant[6] étaient les premiers à étudier des croisements intraspécifiques entre mutants de *Drosophila melanogaster*. Ils ont été suivis de nombreux auteurs, que nous ne citerons pas en détail, pour ne pas allonger ce bref aperçu (voir revues récentes dans Patterson et Stone[3], Montalenti[7]).

Presque tous les travaux prouvent que les croisements intraspécifiques dans une population mendélienne ne se font pas selon la loi du hasard statistique.

Sans doute par analogie aux modalités bien connues de l'isolement sexuel interspécifique, la majorité des auteurs explique les écarts de la panmixie dans les populations mendéliennes par le choix que les femelles exercent parmi les différents types de mâles qui leur sont présentés.

Prenons un seul exemple. Mayr[8] a présenté des femelles sauvages sans antennes et des femelles sauvages normales d'abord à des mâles «yellow» et ensuite à des

[1] J. Huxley, Amer. Nat. *72*, 416 (1938).
[2] A. Sturtevant, Genetics *5*, 488 (1920).
[3] J. Patterson et W. Stone, *Evolution in the Genus Drosophila* (New York 1952).
[4] Th. Dobzhansky et P. Koller, Biol. Zbl. *52*, 589 (1938).
[5] F. Lutz, Publ. Carn. Inst. Washington *143* 36 (1911).
[6] A. Sturtevant, J. Animal Behav. *5*, 351 (1915).
[7] G. Montalenti, Ric. sci. Suppl. *29*, 1 (1959).
[8] E. Mayr, Evolution *4*, 149 (1950).

mâles sauvages. Il obtient les pourcentages suivants de femelles fécondées:

	femelles sauvages fécondées en %	
	avec antennes	sans antennes
par mâles «yellow»	44%	4,7%
par mâles sauvages	85%	13,5%

L'auteur conclut que les femelles sauvages choisissent de préférence les mâles sauvages et que les femelles sans antennes perdent leur pouvoir de discrimination. Une autre interprétation nous semble plus plausible. Que les femelles sans antennes s'accouplent rarement pourrait être imputable à leur incapacité de percevoir les stimuli sexuels des mâles ou tout simplement au choc opératoire. Le fait que les mâles «yellow» fécondent moins de femelles avec et sans antennes que le font les mâles sauvages pourrait bien être une conséquence d'une différence de la vigueur des deux types de mâles.

L'expérience suivante fournit un argument convainquant en faveur de cette dernière hypothèse. Quand on met dans des cages à populations des femelles «vermillon» et en d'autres cages à populations des femelles «cinnabar» en présence d'un nombre égal de mâles «vermillon» et de mâles «cinnabar» on trouve dans les deux cas un grand excédent de femelles fécondées par les mâles «cinnabar». Dans les populations qui comportent des femelles «vermillon» les mâles «cinnabar» fécondent 92,9% des femelles; dans les populations comportant des femelles «cinnabar» ils en fécondent 91,1% des femelles. Cette analyse porte sur 2592 femelles. On ne peut guère expliquer ces deux résultats par une tendance homogamique. Et il semble difficile d'admettre que les deux types de femelles aient exactement la même préférence pour les mâles «cinnabar». Les faits confirment plutôt la détermination de l'écart de la panmixie par la différence de la vigueur des mâles «vermillon» et des mâles «cinnabar». L'observation du comportement de couples formés par une femelle «vermillon» ou une femelle «cinnabar» et un mâle «vermillon» ou un mâle «cinnabar» a corroboré notre hypothèse. Les mâles «cinnabar» commencent leur parade nuptiale un peu plus tôt que les mâles «vermillon»; le délai d'attente jusqu'à l'accouplement est beaucoup plus court et on constate d'une manière générale que les mâles «cinnabar» effectuent leur parade nuptiale avec plus d'énergie, de persévérance et de régularité que les mâles «vermillon».

Les auteurs qui opposaient des mouches mutantes à des mouches sauvages constataient un avantage sélectif des dernières et en concluaient que le phénotype sauvage, issu de la sélection naturelle, a toujours un avantage sur les phénotypes mutants. Ces auteurs admettent implicitement et parfois explicitement que le désavantage des types mutants dans la sélection sexuelle est un effet pléiotrope des gènes marqueurs utilisés. Mais des faits désormais bien établis nous obligent de construire une autre hypothèse.

Dans des populations composées de femelles «vermillon», de mâles «vermillon» et de mâles «sauvages» les mâles mutants fécondent toujours plus de femelles que les mâles sauvages. L'excédent est de 8% quand le nombre de mâles est égal à celui des femelles dans la population et monte jusqu'à 24% s'il y a 95% de mâles dans la population. La série d'expériences comprotait 18 populations et 6915 femelles.

En plaçant un mâle pendant 48 h avec 6 femelles dans un tube on obtient aisément une mesure de la vigueur des mâles en comptant la fréquence des femelles fécondées. Ce test prouve que les mâles sauvages de la souche «Oregon R-C» qui fécondent en moyenne 2,68 femelles, sont dépassés par les mâles d'une souche «vermillon», qui fécondent 3,65 femelles; les mâles d'une souche «white» qui fécondent 4,29 femelles et les mâles d'une souche «cinnabar» qui fécondent 4,35 femelles. Cette détermination a été effectuée pour 2029 mâles.

L'avantage des mouches sauvages sur les mouches mutantes dans la sélection sexuelle n'est donc pas une règle générale, bien qu'on le trouve fréquemment.

Pour savoir si les différences entre les valeurs sélectives des mâles par exemple des souches «vermillon» et «cinnabar» sont déterminées par ces deux gènes marqueurs, les deux souches ont été isogénéisées entre elles, en passant par l'intermédiaire d'une souche sauvage. Après quarante générations d'échange des deux génomes les mâles «cinnabar» isogénéisés et les mâles «vermillon» isogénéisés, ainsi d'ailleurs que les mâles sauvages extraits de cette isogénéisation, fécondent tous en moyenne le même nombre de femelles.

La valeur sélective des mâles dans la sélection sexuelle n'est donc pas un effet pléiotrope des gènes marqueurs. Le nombre élevé de générations, qui était nécessaire pour aboutir à l'isogénéisation, permet de supposer que la vigueur des mâles dépend d'un système polygénique, comme la plupart des facteurs quantitatifs.

Quand on compare le nombre de femelles, fécondées en moyenne par les mâles de souches élevées depuis longtemps au laboratoire, avec celui des mâles de souches fraîchement constituées, on trouve un grand décalage. Les premiers fécondent pendant 48 h en moyenne 2,54 femelles, les derniers par contre fécondent 4,22 femelles. Ces deux moyennes sont établies pour 4960 mâles, répartis en deux lots de sept souches. La différence est hautement significative. Puisque les souches conservées depuis longtemps au laboratoire sont sans aucun doute plus homogènes que celles fraîchement constituées par des mouches capturées dans les populations naturelles, on peut supposer qu'il y a une relation entre la vigueur des mâles et leur hétérozygotie.

On obtient en effet une augmentation spectaculaire du nombre de femelles fécondées par un mâle en croisant deux souches, dont les mâles sont peu vigoureux. Si les mâles des souches «forked» et «sepia» fécondent 23,78% et 28,31% de femelles, les deux types de mâles hétérozygotes réciproques fécondent 74,27% et 78,43% de femelles. D'autres expériences avec d'autres souches

confirment cet effet d'hétérosis pour la vigueur des mâles.

Si on rend une souche de plus en plus homogène, on constate au contraire une diminution notable de la vigueur des mâles. Les mâles d'une souche «cinnabar» par exemple qui fécondaient au départ 84,84% de femelles ne fécondaient plus que 54,39% de femelles après 40 générations de croisements consanguins frères par sœurs.

Pour maintenir la vigueur des mâles d'une souche, il suffit de conserver une population assez nombreuse et d'utiliser à chaque repiquage de 100 à 200 mouches.

Une telle population de mouches hétérozygotes, issues d'un croisement de femelles «forked» avec des mâles «sepia», et maintenue au laboratoire en bouteilles de culture depuis un peu plus de deux ans en repiquage «massif» a prouvé que la vigueur des mâles ne diminue pas pendant cette longue période, qui couvre presque 50 générations, si le degré d'hétérozygotie de la population est conservé.

A la suite de cette série d'expériences on comprend bien pourquoi on a presque toujours trouvé un avantage des mouches sauvages sur les mouches mutantes dans la sélection sexuelle. Les souches mutantes sont presque toutes issues de la descendance d'un seul couple, et elles sont généralement strictement surveillées et protégées contre des contaminations par hybridation involontaire. Les souches sauvages par contre sont souvent constituées au départ par une petite population et par la force des choses plus facilement, bien qu'involontairement, «rénovées» par des mouches sauvages venues de l'extérieur. Le degré d'hétérozygotie d'une souche sauvage – même si elle est élevée depuis un certain temps au laboratoire, doit de ce fait souvent être plus élevé que celui d'une souche mutante. Que ce n'est pas l'avantage du phénotype sauvage sur le phénotype mutant, mais le degré d'hétérogénéité qui détermine la vigueur des mâles se déduit également de l'expérience déjà mentionnée. Les mâles d'une souche «forked» fécondent en moyenne 23,8% des femelles. Les mâles «forked» issus du croisement avec une souche «sepia», qui sont phénotypiquement identiques aux premiers, mais beaucoup plus hétérogènes pour leurs systèmes polygéniques, fécondent en F_1 79,6% des femelles et à partir de la F_2 70,1% des femelles. Les trois autres types de mâles qui apparaissent dès la F_2 dans la même population et qui sont phénotypiquement «sepia», «sepia» et «forked» ou sauvages, fécondent le même nombre de femelles comme les mâles «forked». Il est donc évident que le phénotype sauvage ne confère aux mâles pas le moindre avantage par rapport au phénotype mutant. Et les mâles du même phénotype mutant «forked» sont peu vigoureux ou très vigoureux selon leur hétérozygotie.

Ces résultats obtenus avec relativement peu de souches ne permettent évidemment pas d'exclure d'une manière générale toute influence du phénotype des mouches sur leur valeur sélective dans la sélection sexuelle. Des gènes comme «vestigial» ou «yellow» par exemple pourraient bien avoir une influence sur la parade nuptiale et par conséquent sur la compétition sexuelle.

Toujours est-il que de tels cas d'effet pléiotropes resteraient plutôt l'exception et que les faits dominants dans la sélection sexuelle intraspécifique sont la réceptivité des femelles dont nous ne parlions pas dans cet article, et la vigueur des mâles.

Or, l'avantage sélectif des mâles hétérozygotes dans la compétition sexuelle pourrait avoir une certaine importance pour le maintien de l'hétérozygotie des populations naturelles. Toutes les études récentes de populations naturelles d'animaux et de plantes révèlent leur hétérogénéité pour des inversions, des gènes léthaux et des gènes avec un effet morphologique. Cette hétérogénéité confère sans doute aux espèces une capacité d'adaptation à des changements saisonniers ou définitifs du milieu. Puisque les mâles hétérozygotes ont une probabilité beaucoup plus élevée que les mâles homozygotes de féconder les femelles, on est en face d'un mécanisme d'homéostasis génétique qui maintient l'hétérozygotie des populations. Ce mécanisme empêche une spécialisation trop poussée des espèces, qui pourrait les mener rapidement dans une voie sans issue qui leur serait fatale. Ici comme ailleurs la spécialisation excessive est néfaste et «contre nature».

Ainsi nous sommes amené à postuler que la sélection sexuelle intraspécifique n'est pas un mécanisme novateur de spéciation par croisements préférentiels homogames, mais au contraire un facteur de conservation de l'hétérozygotie des populations, qu'il maintient de cette façon dans les limites statistiques des normes qui caractérisent les espèces, leur assurant constamment une réserve suffisante de gènes à l'état hétérozygote qui leur permet d'évoluer sous la pression de la sélection naturelle.

Les travaux récents sur la sélection sexuelle nous incitent à mieux séparer l'isolement reproductif interspécifique, qui empêche l'échange de gènes entre espèces, de la sélection sexuelle intraspécifique, qui mène au contraire à un brassage optimal des génomes à l'intérieur d'une espèce.

Un mémoire contenant tous les résultats *in extenso* sera publié ailleurs.

Zusammenfassung

Von Darwins Theorie der geschlechtlichen Zuchtwahl ausgehend werden einige Resultate experimenteller Forschung dargestellt, die auf neue Aspekte dieser Frage hinweisen. Es wird der qualitative Unterschied zwischen interspezifischer und intraspezifischer geschlechtlicher Zuchtwahl aufgezeigt. Die erstere hindert den Genaustausch zwischen den Arten, die letztere dagegen führt zu einem optimalen Genaustausch innerhalb einer Art. Es werden die Rolle der Weibchen und Männchen, der selektive Wert des Wildtypus verglichen mit Mutanten und die genetische Basis der Aktivität der Männchen diskutiert.

Genetic and Postgenetic Sex Determination

By E. Witschi*

Recent discoveries in the field of human sexuality are reviving the interest in the mechanisms which bring about male and female differentiation. As in the discussions which at the beginning of the century followed the discoveries of sex chromosomes and of genetic mechanisms of sex differentiation, there appears again a danger of misunderstanding the actual significance of the genetic factor. Even in organisms that have not been available for analysis by conventional heterozygoty methods, it must be assumed that sex morphology and physiology are based in an essential way on genetic constitution. Thus, in the hermaphrodite freshwater snail *Valvata* (Fig. 1a) the formation of ovarian cortex and testicular medulla certainly is hereditarily arranged for. However, when in the course of embryonic development cortical and medullary territories become established, the differentiation is not brought about by any sort of genic segregation. Primary germ cells become eggs or sperms according to their location in one or the other territory. Obviously, such a hermaphrodite may become a male by temporary or permanent inactivation of the cortex, or a female by deficiency of the medulla. Gonochorism of this type is widespread among invertebrates. For instance, in *Crepidula* testicular maturation occurs during the early phase of life; the small young snail is a male. Later testicles and male secondary sex characters regress, following which ovarian development changes the growing individual into a female. Predominance of testicular or ovarian induction seems to be determined mainly by internal milieu conditions correlated with aging processes. In other invertebrates and even in some marine fishes external factors, such as ectoparasitism on an adult female as against unattached larval development, decide over realization of male or female differentiation.

While in these primitive hermaphrodites and gonochorists activation and suppression of inherent potentialities of sexual differentiation depend on a variety of milieu conditions, in other instances the same decisions are under genetic control. In the typically monoecious (hermaphrodite) maize plant two recessive gene mutations were found which suppress, one the formation of female ears (ba ba), the other the differentiation

* Professor of Embryology and Endocrinology, State University of Iowa, Iowa City.

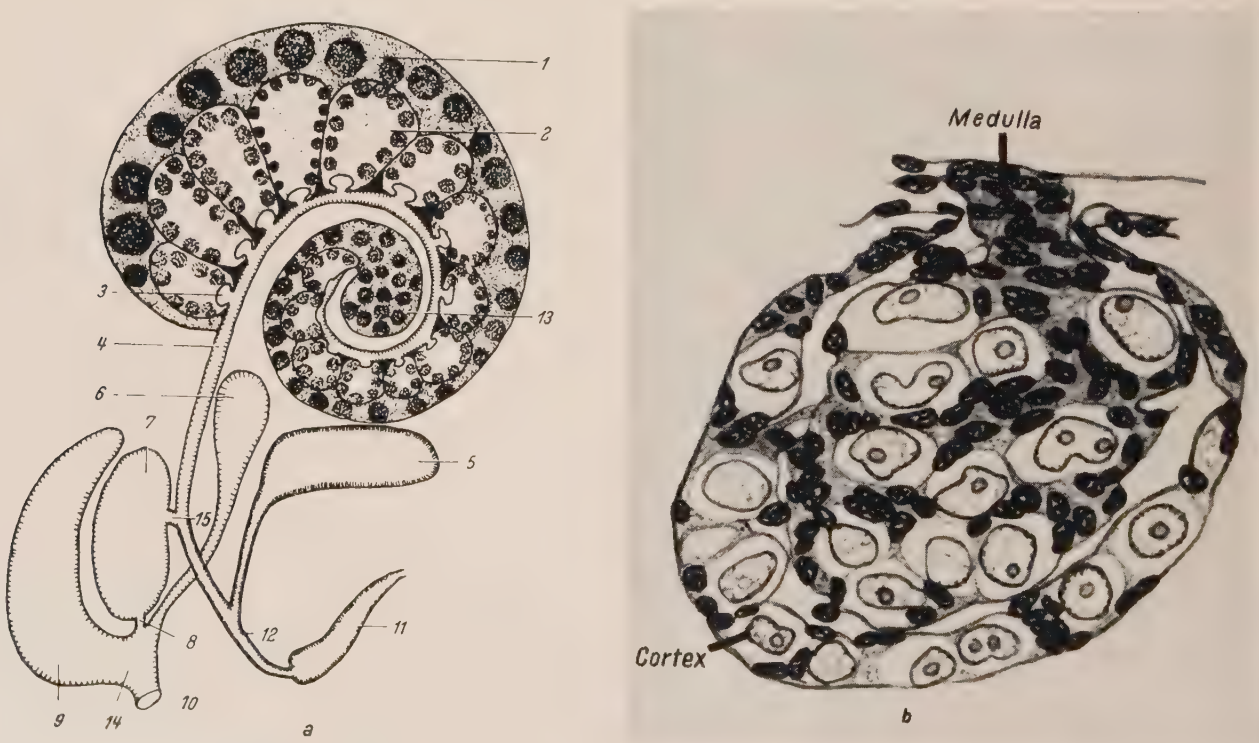


Fig. 1: Sexual differentiation induced by factors of internal milieu. C. L. Furrow, Z. Zellf. mikr. Anat. *22*, 282 (1935)

a Hermaphrodite sex organs of the snail *Valvata tricarinata* (after Furrow); 1. cortex (female), 2. medulla (male), 3. atrium. 4. hermaphrodite duct, 5. Prostate gland, 6. albumen gland, 7. bursa copulatrix, 8. oviduct, 9. shell gland, 10. female genital aperture, 11. Penis, 12. sperm duct (vas deferens), 13. apical zone, 14. vestibule, 15. oviduct. *b* Cross section of amphibian gonad immediately before sexual differentiation

of male flowers (ts ts). By proper combination of stock, homozygous, and heterozygous for these two mutations, a self-perpetuating dioecious (gonochoristic) maize can be synthesized. Evidently this case is not a replica of the usual course of evolution of genetic sex determination; however, it serves to demonstrate that gene mutations bearing on the development of reproductive organs may also become factors of hereditray sex determination.

The comparative study of mechanisms of genetic sex determination in tetrapod vertebrates leads to the conclusion that their origin dates back to the Jurassic period, an estimated 150 million years ago (Witschi[1]). It is safe to assume that evolution started with a number of small gene mutations, leading to conditions similar to those now existent in fishes like Xiphophorus, Oryzias, and Lebistes. It is a fascinating problem how from such beginnings the heteromorphic sex chromosomes and the sex chromatin of mammals might have derived. The near future should provide possibilities for the experimental study of these phenomena.

Unfortunately most animal species favorable for genetic analysis do not equally lend themselves for embryologic and endocrine studies. This is particularly true for *Lymantria* and *Drosophila*, which served Goldschmidt and Bridges in the establishment of their concepts of *quantitative genic balance*. In Drosophila work on translocation of pieces of chromosomes has permitted to localize feminizing factors in the X chromosome (Dobzhansky and Schultz[2]; Patterson, Stone, Bedichek[3]) and masculinizing factors in the third chromosome (Pipkin[4]). Bridges' term of 'genic balance' seems to imply a direct interaction between female and male determining genes; but considering their localization in separate chromosomes this seems hardly acceptable. Goldschmidt in many of his writings suggested some interaction between gene-substances, graphically expressed as a competitive race toward gaining control of developmental processes.

The study of the tetrapod vertebrates proves that the competition is not one between genes but between the cortical and medullary inductors of sexual differentiation. Germ cells — whether of female or male genic constitution — differentiate into eggs under the influence of the cortex and into sperms under the influence of the medulla. Gonia lost outside the gonadal territory always remain sexually undifferentiated (Witschi[5–7]). The quantitative rate of early development of cortex and medulla is genetically controlled. However, decisive for the outcome of the competition between the two inductors becomes the fact that they act as a pair of antagonists, each tending to suppress the other (Witschi[8]). In summary, genic control of sex differentiation in higher vertebrates assures the prevalence of one or the other member of a pair of antagonistic inductors. The cross section Figure 1b, through the gonad of an amphibian larva just undergoing sexual differentiation, presents a condition which, temporarily, is identical with that of the hermaphrodite gland of *Valvata*. It shows medulla and cortex, each with a number of yet undifferentiated gonia. The relative strength of the medulla reveals that the specimen is a genetic male. Hence, germ cell development in the cortex already seems doomed.

Since now we realize that the decision on male or female differentiation actually depends on a balance of inductors rather than genes, the question arises whether a strict and necessary harmony always exists between the two systems, or whether under special circumstances, genetic and postgenetic determination may become contradictory. Simple evidence of 'sex reversal', that is of differentiation contrary to the genetically predetermined pattern, gives no sufficient answer unless supplemented by definite proof that the genic constitution has remained unchanged.

The most complete and extensive proof of the possibility and actual occurrence of sex reversal without genic readjustment is furnished by the case of continuous breeding of purely homozygous, male (ZZ) stock of *Xenopus laevis*. In 1950[7] the writer reported that treatment of larvae with small doses of estradiol results in complete feminization of the genetic males (193 ♀ + 0 ♂, as against 43 ♀ + 52 ♂ in control group). Breeding of sex reversed males (♀ ZZ) with fraternal males (♂ ZZ) gives entirely male offsprings (Chang and Witschi[9,10]). However, by treating any chosen number of eggs (genetically all ZZ) with estradiol, one obtains the homozygous females for the perpetual propagation of this stock (Fig. 2). So far this experiment has been carried on through four generations. The chromosome number remains constant (36 in the diploid cells). The question of what may be the possible effects on sex chromosomes that are repeatedly carried through individuals of contrary sex expression gains interest through attempts by the author[11] and possibly also Ohno[12] to explain the heterochromia of Barr's sex chromatin on the basis of genetic inactivity.

[1] E. Witschi, Science *130*, 372 (1959).
[2] T. Dobzhansky and J. Schultz, J. Genet. *28*, 349 (1934).
[3] J. T. Patterson, W. Stone, and S. Bedichek, Genetics *22*, 407 (1937).
[4] S. Bedichek-Pipkin, Univ. Texas Publ. *5914*, 69 (1959).
[5] E. Witschi, Arch. mikr. Anat. *86*, 1 (1914).
[6] E. Witschi, Arch. Entw. Mech. *49*, 316 (1921).
[7] E. Witschi, Arch. Anat. micr. Morph. exp. *39*, 215 (1950).
[8] E. Witschi, Anat. Rec. *66*, 483 (1936).
[9] C. Y. Chang and E. Witschi, Proc. Soc. exp. Biol. Med., N. Y. *89*, 150 (1955).
[10] C.Y. Chang and E.Witschi, Proc. Soc. exp. Biol. Med., NY *93*, 140 (1956).
[11] E.Witschi, Proc. int. Genetic Symposia, Tokyo, *Cytologia Suppl.* 133 (1957).
[12] S. Ohno, W. D. Kaplan, and R. Kinosita, Exp. Cell Res. *18*, 415 (1959).

Fig. 2: Mating pair of *Xenopus*, consisting of a male (ZZ) and a sex-reversed ZZ individual now functioning as a female. The deposited and fertilized eggs are all of male (ZZ) constitution (phot. by K. Mikamo)

Only a few additional cases of sex reversal are adequately supplied with proof of unaltered genic and chromosomal constitution. Two adult hermaphrodite frogs, bred with normal males and females, brought evidence of female genic constitution (XX), both in the ovarian and the testicular parts of their gonads (Witschi[13]). On the other hand, well known experiments by Ponse[14] establish the genetic maleness (ZZ) of both testicular and cortical parts of the composite sex glands of male toads. Humphrey[15] by testicular implants transforms female salamanders (*Ambystoma*) into males, and progeny tests prove persistence of the female genotype (ZW). Gallien[16] in the newt caused genetic males to differentiate as females by the administration of estrogenic hormones; their constitution remained unchanged (ZZ) as revealed in breeding tests. Finally Miller[17] and Witschi[11] showed that in the hen, sex reversed by ovariotomy, spermatogenesis proceeds normally with unchanged female chromosomal arrangements (ZO, Fig. 3).

Fig. 3: Four spermatocytes from the testis of an ovariotomized hen showing precocious movement of single Z chromosome to one pole in anaphase of first meiotic division

It will be noticed that five of the six presented examples refer to amphibian species; but the case of the sex reversed hen is particularly valuable because it serves as unequivocal proof that sex reversal without chromosomal compensation is possible even in the class with the most highly specialized chromosome type.

This short review leads to a number of conclusions of fundamental value. (1) The sexual differentiation of primordial germ cells is directly controlled by induction. (2) Induction may arise from external or internal milieu conditions. In gonochorists it assumes also antagonistic qualities. (3) In tetrapod vertebrates genetic mechanisms gain control of the development of the inductors and thereby, indirectly, of the sexual differentiation of the gonads. (4) However, there remain possibilities of postgenetic interference with the course of gene-initiated chain reactions. (5) In all sufficiently analyzed cases, deviations from the genetically indicated sex have been brought about by inhibition or elimination of the epistatic inductor. This may result in near or fully complete sterility. (6) In some instances the hypostatic inductor, having been relieved of its antagonist, responds with a compensatory development that may lead to partial or complete sex reversal.

It seemed desirable to review and reaffirm the evidence for postgenetic sex determination before entering on the discussion of recent discoveries bearing on abnormal sex development in man. During the last three years a number of French[19] and British[20–30] investigators have published a series of reports on unusual chromosome numbers which tend to be associated

[13] E. Witschi, Arch. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. *1*, 127 (1925).
[14] K. Ponse, Rev. suisse Zool. *31*, 177 (1924).
[15] R. R. Humphrey, Amer. J. Anat. *76*, 33 (1945).
[16] L. Gallien, Bull. Biol. France et Belgique *88*, 1 (1954).
[17] R. A. Miller, Anat. Rec. *70*, 155 (1938).
[18] E. Witschi, Trans. Third Conf. Gest. Josiah Macy Found., Ed. C. A. Villee 119 (1956).
[19] J. Lejeune, R. Turpin, and M. Gautier, Ann. génét. *1*, 41 (1959).
[20] A. G. Baikie, W. M. Court Brown, P. A. Jacobs, and J. S. Milne, Lancet 425 (1959).
[21] C. E. Ford, P. A. Jacobs, and L. G. Lajtha, Nature *181*, 1565 (1958).
[22] C. E. Ford, K. W. Jones, O. J. Miller, U. Mittwoch, L. S. Penrose, M. Ridler, and A. Shapiro, Lancet *1959*, 709.
[23] C. E. Ford, K. W. Jones, P. E. Polani, J. C. de Almeida, and J. H. Briggs, Lancet *1959*, 711.
[24] C. E. Ford, P. E. Polani, J. H. Briggs, and P. M. F. Bishop, Nature *183*, 1030 (1959).
[25] M. M. Grumbach, A. Morishima, and E. H. Y. Chu, Abstr. I. int. Congr. Endocr. Copenhagen (1960), in Press.
[26] D. G. Harnden and J. S. S. Stewart, Brit. med. J. *2*, 1285 (1959).
[27] D. G. Harnden and C. N. Armstrong, Brit. med. J. *2*, 1287 (1959).
[28] D. A. Hungerford, A. J. Donnelly, P. C. Nowell, and S. Beck, Amer. J. Human Gen. *11*, 215 (1959).
[29] P. A. Jacobs, A. G. Baikie, W. M. Court Brown, T. N. MacGregor, N. MacLean, and D. G. Harnden, Lancet *1959*, 423.
[30] I. M. Nilsson, S. Bergman, J. Reitalu, and J. Waldenström, Lancet *2*, 264 (1959).

with abnormalities of various degenerative types. Attempts to interpret them in the light of the classical findings in polyploid and heteroploid *Drosophila* flies soon became complicated by the realization that the very type of genetic sex differentiation in mammals may not be the same as in Drosophila (Russell *et al.*[31]; Welshons and Russell[32]). More serious is the inconstancy of relationship between chromosomal and morphologic aberrations. In the Table the known viable chromosome combinations in man are summarized, and listed together with the physical types of their bearers.

Mongolism is the best established aberrant type. Chromosomally it consists of triplo-22 males and females (Fig. 4). Over 30 cases have been adequately studied, cytologically; however little information is available about their sexual development and relative fertility. In other groups only 1 to 4 cases have been described (not taking into account the normal XX females and XY males). Manifestations of sexual abnormality are irregularly distributed and show no simple relationship to chromosomal patterns. An XX individual may be not only a normal female, but also a Klinefelter (pseudomale), an agonadal Turner, or a true hermaphrodite. A similarly wide range is found in the XY group; it includes also the case of a woman who apparently is a completely sex reversed genetic male (Nilsson *et al.*[30]). Or, viewed from the other side, we note that the Klinefelter syndrome appears under five different chromosomal groups (XXY, XX, XXY–XX, XY, XXY + 22).

Some remarkable results were obtained from studies on the inheritance of color blindness. In three chromatin-positive Klinefelter cases (XX or XXY?) Nowakowski *et al.*[33] find evidence that both X chromosomes are derived from the mother. It is not surprising that similar studies with 4 chromatin-negative Turner cases (XO or XY?) show that the single X is of maternal origin. Recently Grumbach *et al.*[25] reported on a chromatin-positive XO case. On the basis of Ohno's contention that it is particularly the paternal X that produces the sex-chromatin body, it would appear that in Grumbach's case the X was of paternal origin.

How is it possible to interpret the remarkable diversity of chromosomal arrangements and morphologic manifestations presented by this relatively still very small number of cases? In two previous publications that were written without knowledge of chromosomal aberrations (Witschi[18,34]) it was shown that the peculiarities of the Turner and Klinefelter syndromes can be understood on common principles of developmental physiology. Experiments with amphibian eggs (Witschi[35,36]) show that overripeness (by delayed fertilization) or exposure to CO_2 result in stepwise deterioration of the developmental capacities of the eggs. As a consequence one observes among others the following ab-

List of viable chromosomal types in man with correlated types of sexual and somatic manifestations. Based on data by Baikie[20], Ford[21–24], Grumbach[25], Harnden[26,27], Hungerford[28], Jacobs[29], Nilsson[30] *et al.*, unpublished material of Zellweger, Mikamo, and Witschi, and personal communications by Dr. C. E. Ford

Chromosomes		*Manifestations* (in parentheses: number of reported cases) * primary amenorrhea; ** secondary amenorrhea; + chromatin positive; − chromatin negative
number	pattern m mosaic	
47	XXX	+ Super female (1)**
47	XXY	+ Klinefelter (4)
46	XX	+ Klinefelter (1); + Turner (1)*; + True hermaphrodite (2); + *Normal female*
46–47	$XXY–XX^m$	+ Klinefelter (1)
46	XY	− Klinefelter (4); − Turner (1)*; Female; − *Normal male*
45	XO	− Turner (4)*; + Turner (1)*
45–46	$XX–XO^m$	+ Turner (3 or 4)*
47	$XX + 22^{nd}$	+ Mongolism, female (5)
47	$XY + 22^{nd}$	− Mongolism, male (6)
48	$XXY + 22^{nd}$	+ Klinefelter and mongolism (1)
46–50	irregular	Leukemia patients

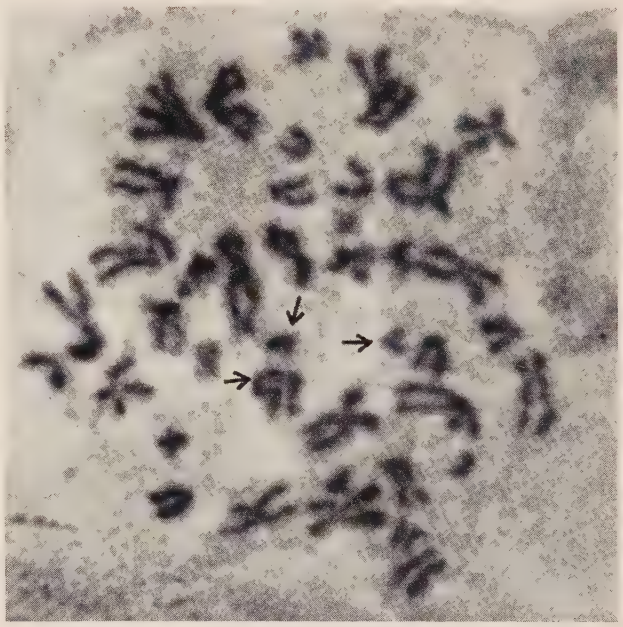


Fig. 4: Dividing bone-marrow cell of baby girl (possibly mongoloid) with 47 chromosomes; arrows point to the three chromosomes of next to smallest size; × 2600 (Zellweger, Mikamo, Witschi unpubl.)
Addition at time of proofreading: Study of the parents indicates now that the father has 46 and the mother 48 (47-49) chromsomes. Both parents are mentally normal individuals; the development of the child is under observation

[31] W. A. Russell, L. B. Russell, and J. S. Gower, Proc. nat. Acad. Sci., Wash. *45*, 554 (1959).

[32] W. J. Welshons and L. B. Russell, Proc. nat. Acad. Sci. Wash., *45*, 560 (1959).

[33] H. Nowakowski, W. Lenz, and J. Parada, Acta endocrin. *30*, 296 (1959).

[34] E. Witschi, W. O. Nelson, and S. J. Segal, J. clin. endocrin. Metab. *17*, 737 (1957).

[35] E. Witschi, Verh. naturf. Ges. Basel *34*, 33 (1922).

[36] E. Witschi, Cancer Res. *12*, 763 (1952).

normalities: Irregularity and incompleteness of gastrulation, defective development of rostral parts of the embryo, twinning, polymelia, and other defects of limb development, cellular pathology, reduction in number and quality of the germ cells, dysgenesis of the sex glands, and masculinization of genetic females. It is evident that the abnormalities produced in these experiments duplicate not only the peculiar germinal and somatic traits of the Turner and Klinefelter syndromes and of true hermaphrodites but also the characteristic features of human mongolism.

In the author's earlier work not much attention had been given to chromosomal conditions in embryos from overripe cells. Only the occurrence of gross abnormalities in highly damaged eggs had been noted. In the meanwhile Beetschen[37] has reported on extensive irregularities in chromosome distribution in blastulae derived from overripe salamander eggs. A study of overripe rat eggs is now in progress in our laboratory. Overripeness is obtained by delayed ovulation induced in constant estrus females. One of the first eggs examined showed non-disjunction of one diad in the second meiotic division (Fig. 5). If permitted to develop further, this egg should have retained either two elements or none of this chromosome type. This observation in itself is sufficient to explain the origin of the triplo-22 condition in mongoloids, the presence of two maternal X chromosomes in colorblind, chromatin-positive Klinefelter cases and of the chromatin-positive XO Turner case that apparently received no maternal sex chromosome. Moreover, the observations by Beetschen parallel the reports by Ford *et al.* on XXY–XX and of XX–XO mosaics. Both indicate irregularities of chromosome distribution during cleavage. That pathology of cell development may lead to chromosomal abnormalities is well known to students of cancer cells, and is reaffirmed again by chromosome studies on human leukemia (Baikie[20] *et al.*), which reveal increases in chromosome numbers up to 50, particularly in cells of bone marrow.

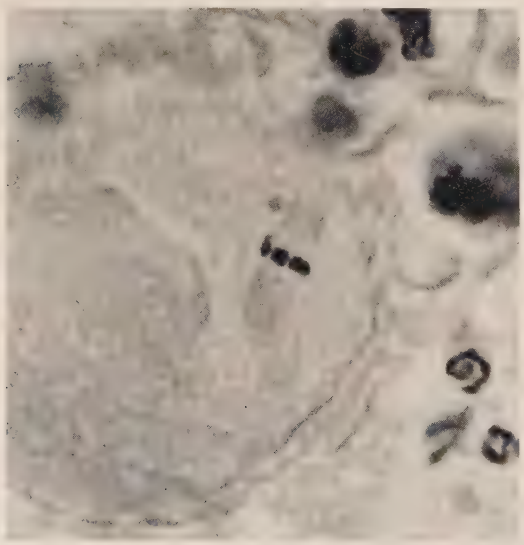


Fig. 5: Second polar spindle of a damaged unfertilized Rat egg. One diad (slightly out of focus) moves undivided to the upper pole; × 2000

Summing up old and new evidence and thought about the etiology of human sex deviations that are characterized by primary germinal dysgenesis and by frequent association with degenerative somatic malformations, the following generalizations may now be arrived at:

(1) The primary cause is a degenerative modification of the egg or the early germ which in itself is sufficient to explain gonad dysgenesis and teratologic development in general.

(2) The same original damage may also become the cause of chromosomal aberrations most of which seem to be lethal. The non-lethal ones probably exert some modifying influences on the course of sexual and somatic development in accordance with their genic value.

This interpretation which applies also to several other types of abnormal development, including monozygotic twinning, is compatible with the established fact that the frequency of most non-hereditary types of malformations shows a small increase among children of very young mothers and a more definite one in those from mothers older than 40. This may well be a consequence of difficulties in the ovulation process, resulting in delayed release of the egg from its follicle. At any rate, age dependency points to physiologic rather than pure chance determination of these abnormalities.

While it is concluded that degenerative types of sex deviation and somatic malformation have a postgenetic origin, evidently all cases which suffer chromosomal aberrations of any kind thereby acquire changes in their genetic constitution. Hereditary transfer of extra chromosomes may possibly become available for study in offsprings from mongoloid parents. However, sterility of the involved types of sexual abnormality precludes the further genetic analysis of this class.

Supported by grants from the U.S. National Science Foundation and from the U.S. Public Health Service.

Zusammenfassung

Die relative Bedeutung genetischer und postgenetischer Faktoren der Geschlechtsbestimmung wird diskutiert. Nach einer Übersicht über Fälle von experimenteller Geschlechtsumkehr bei Wirbeltieren, die alle ohne genetische Regulation bleiben, werden die degenerativen Typen von Geschlechtsabnormalitäten beim Menschen kritisch bewertet. Es wird angenommen, dass in den sogenannten Turner- und Klinefelter-Syndromen die somatischen, genitalen, und chromosomalen Aberrationen wahrscheinlich gemeisam durch Keimschädigung erzeugt werden.

[37] J. Beetschen, C. R. Acad. Sci., Paris *245*, 2541 (1957).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents

Zur Indikation biochemischer Vorgänge durch kristallisierendes Kupferchlorid

Langsames Verdunstenlassen wässriger Kupfer(II)-chloridlösungen auf einer umgrenzten Glasfläche führt je nach zugesetztem Lösungsgenossen zu charakteristischen Kristallgefügen[1,2]. Geringste Mengen Blut ergeben so durch Einbau oder Anlagerung von Cu-Eiweisskomplexen je nach Art und Herkunft des Blutes verschiedene Aggregate[3], von denen die immer wieder betonte Häufigkeit von «Hohlformen» und «Querlagerungen» bei malignen Erkrankungen[4] hier von besonderem Interesse ist. Man war bisher nicht in der Lage, hierfür eine definierte Substanz verantwortlich zu machen. An Hand von Modellversuchen wurde daher in den letzten Jahren untersucht[5], ob Störungen durch spiegelbildlich asymmetrische Substanzen[6], also durch Verunreinigungen des Lösungsgenossen mit optischen Antipoden, in der Lage sind, sichtbare Habitusänderungen des im Van't Hoff'schen Sinne symmetrischen $CuCl_2 \cdot 2\,H_2O$ zu induzieren.

Der Methodik wurde die grösste Aufmerksamkeit geschenkt, um reproduzierbare Resultate zu garantieren. Die Kristallisation erfolgte auf speziell gereinigten, horizontal gelagerten ($\pm$ 0,02 mm/m) und mit einem paraffinierten Glasring ($\varnothing$ 72 mm) umgrenzten Diaplatten in einem Raum (0,45 m³) konstanter Temperatur und Feuchtigkeit. Unter den Faktoren, die in mehreren hundert Kristallisationen auf ihren Einfluss untersucht und unter Kontrolle gebracht wurden, sollen folgende als Beispiel erwähnt werden: a) Die Reinigung der Platten, wobei zum Beispiel Netzmittel vermieden werden müssen. b) Spurenverunreinigungen im Lösungsmittel; entionisiertes Wasser von $3 \cdot 10^6\ \Omega$ war zum Beispiel noch unbrauchbar. c) Staubpartikel, diese sind in gewissen Grenzen ohne Einfluss. d) Vibrationen; ihr Effekt wird allgemein von Lösungsgenossen dominiert, sie müssen jedoch ausgeschaltet werden, da sie nicht nur die Ausbildung des Idealgefüges beim zusatzfreien Kupferchlorid, sondern auch den Einfluss enantiomorpher Lösungsgenossen unterdrücken. e) die Verdunstungszeit, die bei der Untersuchung asymmetrischer Zusätze ein «prearrangement» ($>$ 15 h) vor Einsetzen der eigentlichen Kristallisation erlauben muss. Allgemein ergab sich, dass Faktoren, die zwar die Kristallisation des zusatzfreien Kupferchlorids dominieren, bei Kristallisationen mit den meisten Zusätzen vernachlässigt werden können, jedoch nicht bei asymmetrischen Zusätzen (Molekülen mit asymmetrischen C-Atomen), deren spezifische Wachstumsbeeinflussung sie empfindlich stören. Einige Testplatten mit reinem Kupferchlorid (Abb. 1) wurden daher pro Ansatz als Kontrolle mitkristallisiert.

Als Modellsubstanzen dienten optisch aktive Antipoden (und deren Mischungen) von Aminosäuren, die, wenn nötig, über ihre Chlorazetylderivate mit Taubenleberhomogenisat enzymatisch gereinigt waren, ferner Antipoden von Oxysäuren und von Aminopurinen, die aus optisch reinen Aminosäuren synthetisiert wurden, sowie einige elektrophoretisch einheitliche Proteine. Diese Zusätze wurden in Mengen von 1–3% mit Kupferchlorid kristallisiert. Ein durch die reine L-Form induziertes Kristallgefüge war – wie zu erwarten – in jedem Fall identisch mit dem der D-Form der gleichen Substanz. Während chemisch verschiedene Substanzen gleicher Konfiguration (L-Reihe) bei sehr unterschiedlichen Endaggregaten (zum Beispiel Albumin sternförmige, grob verzweigte nicht verwobene Nadeln; Globulin fein verzweigte Gefüge subparalleler, verwobener Fasern) in Mischungen lediglich die zu erwartenden kontinuierlichen Übergänge von der einen zur anderen Endform induzierten, fand bei allen bisher untersuchten Mischungen optischer Antipoden, trotz deren identischer Endbilder eine «Entflechtung» des Kupferchloridgefüges statt, die oft schon bei einer 1%igen Verunreinigung mit dem Antipoden einsetzte (Abb. 2). Besonders auffällig ist die Wachstumsbeeinflussung durch optisch reine Mandelsäure (Abb. 3a bzw. 3c) verglichen mit der des inaktiven Gemischs (Abb. 3b). Der Typus solcher Aggregate ist von Versuch zu Versuch identisch reproduzierbar. Selbst der Flächeninhalt der planimetrierten «Vakuolen» in Abbildung 2b zum Beispiel variiert bei gleichen Bedingungen in zwanzig Versuchen nur um $\pm$ 11%.

Abb. 1: Idealgefüge des reinen Kupferchlorids ohne Zusatz. 100 mg $CuCl_2 \cdot 2\,H_2O$ in 5 ml H_2O bidest.

[1] A. und O. Selawry, *Die Kupferchloridkristallisation in Naturwissenschaft und Medizin* (Fischer Verlag, Stuttgart 1957).

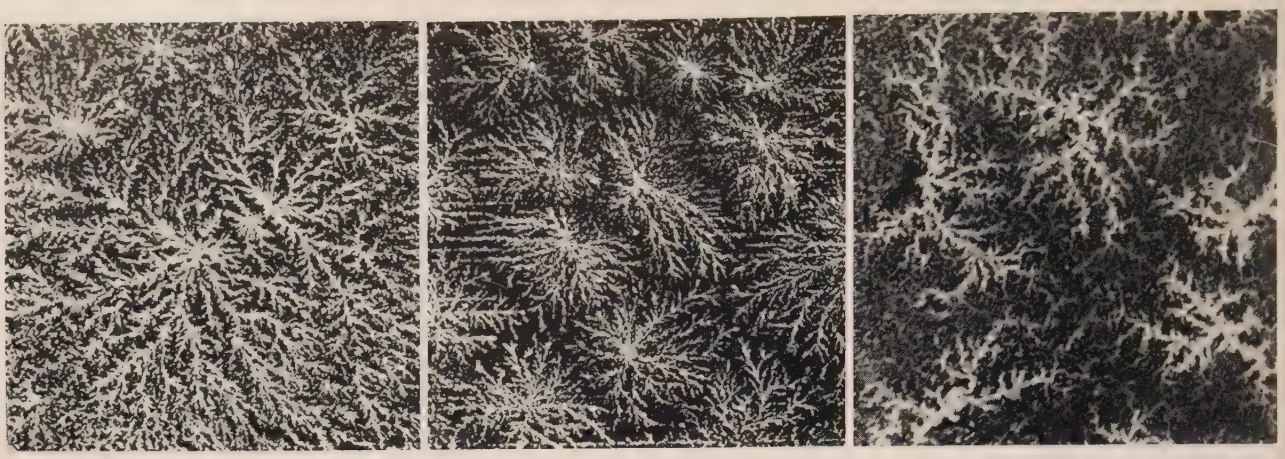
[2] W. Kleber *et al.*, Z. Kristallogr. *111*, 3 (1959).

[3] E. Pfeiffer, Münchn. med. Wschr. *3*, 92 (1938). – N. Jung, Pharmazie *10*, 628 (1952). – H. Riebeling, Dtsch. Z. Nervenheilk. *170*, 209 (1953).

[4] A. Selawry, Med. Kli. *47*, 107 (1952). – W. Krebs, Helv. chir. Acta *14*, 232 (1947). – J. Trumpf und S. Rascher, Münchn. med. Wschr. *86*, 544 (1939). – O. Selawry, Arch. Geschwulstf. *12*, 367 (1958).

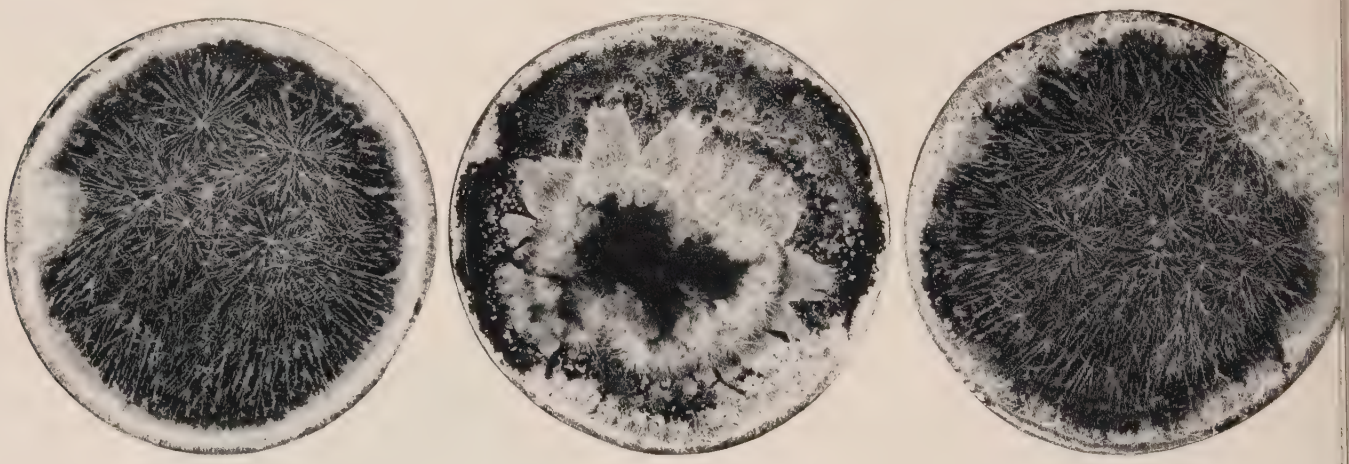
[5] F. Vester, XVI. Congr. of pure and appl. Chem., Paris (1957).

[6] Spiegelbildliche Asymmetrie bezieht sich auf eine Spiegelebene *zwischen* zwei asymmetrischen Objekten; diese sind Spiegelbilder voneinander, besitzen jedoch selber keine Spiegelebene.



a b c

Abb. 2: Spurenverunreinigung mit Antipoden. 100 mg $CuCl_2 \cdot 2\ H_2O$ + 2 mg 6-Succinaminopurin (SAP)
a) optisch reiner Zusatz (100 D-SAP + 0 L-SAP); b) 1%ige Verunreinigung (99 D-SAP + 1 L-SAP); c) inaktives Gemisch (50 D-SAP + 50 L-SAP). Ausschnitte je 30 mm der Plattenmitte



a b c

Abb. 3: «Entflechtung» identischer End-Aggregate bei Mischungen der Antipoden. 100 mg $CuCl_2 \cdot 2\ H_2O$ + 3 mg Mandelsäure
a) optisch reiner Zusatz (3% L-Mandelsäure); b) inaktives Gemisch (1,5% D- + 1,5% L-Mandelsäure); c) optisch reiner Zusatz (3% D-Mandelsäure)

Mehrere der hier angeführten experimentellen Befunde sowie auch theoretische Überlegungen[7] deuten auf die Möglichkeit eines besonderen Mechanismus der Wachstumsbeeinflussung hin, der spezifisch auf Zusätze der enantiomorphen Formen anspricht. Die Übertragung einer spezifischen Information spiegelbildlicher Asymmetrie wäre z.B. wie folgt denkbar: Ein auf der Glasoberfläche durch Van der Waalssche Kräfte in vier verschiedene Richtungen (*Oben*-Luft, *Unten*-Glas, *Plattenzentrum*-beginnende Kristallisation, *Plattenrand*-Wachstumsrichtung bzw. Lösung) als Van't Hoffsches Tetraeder orientiertes asymmetrisches Molekül (oder dessen Komplexverbindung mit Kupferchlorid) vermag zwei energetisch gleiche Positionen (Auflagerungen) des Kupferchlorids, bei denen lediglich rechts und links vertauscht sind, zu unterscheiden und könnte mit diesen ähnlich wie bei der Bildung von Diastereomeren zwei in ihrem Energieinhalt unterschiedliche «Addukte» bilden. In der Tat sind zwei solche spiegelbildliche Auflagerungen des Kupferchlorids kristallographisch möglich und werden durch die quasi-zweidimensionale Kristallisationsanordnung manifest, da sie erst unter Zuhilfenahme der dritten Dimension, zum Beispiel erst durch eine $\sim 90°$-Drehung um die c-Achse, ineinander übergehen können. Es sind dies die Auflagerungen auf (110) und ($1\bar{1}0$) (Abb. 3), die zwar polarisationsoptisch zum Beispiel nicht unterscheidbar sind, jedoch durch die Anwesenheit asymmetrischer Lösungsgenossen voreinander Bevorzugung erfahren, was zu den beobachteten Störungen im Gefügebild Anlass geben könnte; ein Mechanismus, der auf Zusätze gleicher Konfiguration bzw. auf solche mit «normalen», symmetrischen C-Atomen gar nicht ansprechen würde. Auf andere Möglichkeiten einer allerdings unspezifischen Beeinflussung wie über die adsorptionsfreudigen Endflächen (001) oder durch Auto-Diastereomerisierung der Mandelsäure über das zweiwertige Kupfersalz kann hier nicht näher eingegangen werden.

Die Ergebnisse sind neben ihrer womöglichen Bedeutung für das noch ungelöste Problem, optische Verunreinigungen in Gemischen nachzuweisen, vor allem von Interesse im Zusammenhang mit der Frage, ob die Interpretation gewisser Kristallstrukturen als Hinweis auf krebsartige Erkrankungen[1,4], wie sie erstmalig von R. Steiner[1] angeregt wurde, biochemisch fundiert werden

[7] F. Vester, XVII. Congr. of pure and appl. Chem., München, Ref. B 206 (1959).

kann. Kinetische Untersuchungen von KUHN[8] lassen die enzymatische Entstehung hoher optischer Reinheitsgrade im Innern biochemischer Systeme nur als temporären Effekt erscheinen. Obwohl die im Laufe der Zeit so entstehenden endogenen Antipoden genaue Spiegelbilder der natürlichen Substanzen sind, das heisst bei gleichen physikalischen Eigenschaften auch chemisch gleichartig reagieren, könnten sie sich durch Bildung von Diastereomeren wie Antimetaboliten verhalten und im Gegensatz zu exogenen Antipoden, gegen die sich der Organismus im allgemeinen zu schützen weiss[9], zu empfindlichen Störungen im Zellstoffwechsel führen. Angesichts der gezeigten Beeinflussung des Kristallwachstums durch optische Verunreinigungen liegt es nahe, auch bei der Ausbildung der als für kanzeröse Fälle häufig angegebenen Kristallaggregate bei der erwähnten «diagnostischen Biokristallisation» nicht die eine oder andere Einzelsubstanz, sondern ein gemeinsames Prinzip, wie etwa eine beginnende Razemisierung, verantwortlich zu machen. Bestärkt wird diese Ansicht durch Untersuchungen von SELAWRY, welche zeigen, dass eine offensichtlich starke Beziehung der Häufigkeit solcher Texturen nicht nur mit malignem Wachstum[4], sondern auch mit dem Alter der Versuchsperson[1,10] (allmähliche Razemisierung?) besteht.

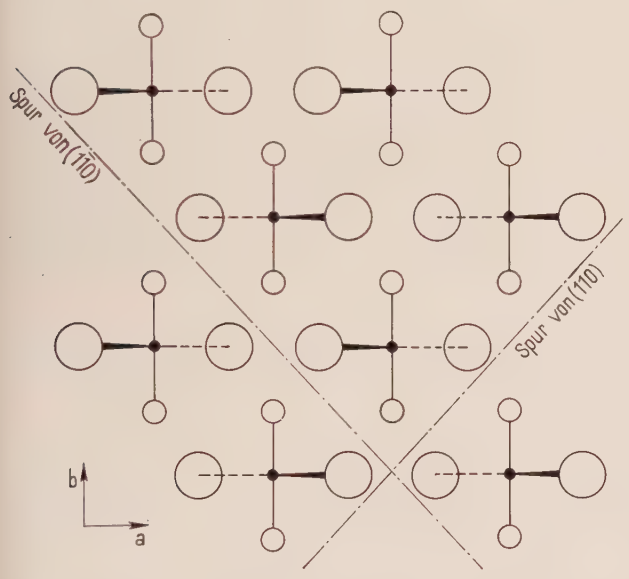


Abb. 4: Modell eines Kupfer(II)chloridkristalle mit 2 spiegelbildlichen Auflagerungsmöglichkeiten. Auf (110) aufliegende Chloratome zeigen durchgehend nach rechts, auf (1$\bar{1}$0) aufliegende durchgehend nach links vom Cu-Zentralatom aus gesehen. (Wachstumsrichtung = c-Achse, senkrecht zur Papierebene)

● = Cu ◯ = Cl ○ = OH_2

Eine ausführliche Beschreibung sämtlicher Ergebnisse erfolgt an anderer Stelle. Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Der Autor möchte Herrn Prof. Dr. H. SEIFERT, Münster, für seine Anregungen und sein ermutigendes Interesse sowie Herrn Dr. D. JUNG, Saarbrücken, für zahlreiche Diskussionen seinen aufrichtigen Dank aussprechen. Für manch wertvolle Hilfe bei der Ausführung von Vorversuchen fühlt sich der Autor den Herren Dr. O. SELAWRY, Buffalo, N. Y., und Prof. Dr. K. E. SCHAEFER, New London, Mass., verbunden.

F. VESTER

Biochemische Abteilung des Instituts für organische Chemie der Universität des Saarlandes, Saarbrücken, 12. Januar 1960.

Summary

It is shown that differences in the asymmetry (optical impurities) of an added compound may influence considerably the crystallisation pattern of cupric chloride when crystallised under constant conditions on a glass plate. The high amplification of a purely formal difference in asymmetry calls for a specific information mechanism, one crystallographic possibility of which is discussed. This shows an approach to the problem of recognizing optical impurities in mixtures. The results are discussed in connection with the spontaneous racemisation in biochemical systems and may contribute to the understanding of the 'diagnostic biocrystallisation' of copper chloride in cases of cancer

[8] W. KUHN, Exper. *11*, 429 (1955).

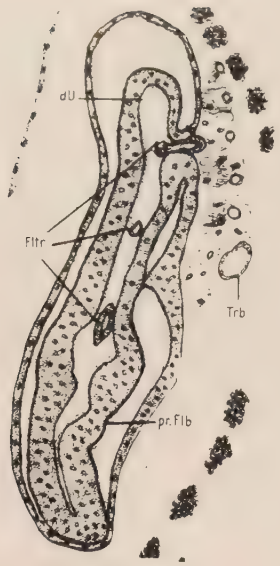
[9] Z. B. A. MEISTER, *Biochemistry of the Aminoacids* (Academic Press Inc., New York 1957), p. 110.

[10] O. SELAWRY, private Mitteilung.

Über die Entstehung von Mehrfachbildungen der Flügelimaginalscheibe bei Großschmetterlingen

Auffallende Aberrationen einer grössenmässig fluktuierenden, normalerweise funktionslosen Gewebeumstülpung am oberen Imaginalscheibenrand der Flügelimaginalscheibe wurden seit längerer Zeit von dem Verfasser an den Raupen verschiedener Großschmetterlingsarten beobachtet (Abb. 1 und 2b, dU). Im Inneren dieser hohlen Gewebetaschen begann nämlich dann, wenn 1–2 Tracheen in sie eingewachsen waren, eine ähnliche Strukturbildung wie im präsumptiven Flügelblatt (vgl. hierzu Abb. 2a, dU_2); dabei verklebten die einander zugewandten Hypodermisunterseiten der dU mit ihren Basalmembranen zu einer Mittelmembran (Mim) und differenzierten ein Stelzzellenepithel aus. Durch eine aufgewölbte Hypodermispartie (vgl. hierzu Abb. 3, Zw) konnte überdies der nach dorsal auswachsende Gewebestummel der dU von dem ventral gelegenen präsumptiven Flügelblatt abgetrennt werden und einen eigenen Zugang aus der Leibeshöhle erhalten (vgl. hierzu Abb. 3, Zu_1 und Zu_2). An unoperierten Flügelimaginalscheiben entwickelten sich solche Bildungen jedoch nicht weiter. Erst in postoperativer Folge bestimmter Imaginalscheibendefekte (zum Beispiel auto- und heteroplastische Implantationen bzw. Teilexstirpationen des präsumptiven Flügelblattes) traten überzählige dorsale Flügelblattbildungen mit eigenem Tracheen- und Lakunensystem auf (Abb. 3, Fltr und Lak), welche jedoch offensichtlich nicht aus der Wundstelle[1], sondern aus der dU entstehen. Letztere offenbart demnach im 4. und 5. Raupenstadium eine latente Organbildungspotenz, welche durch einen anderwärts gesetzten Wundreiz an der Flügelimaginalscheibe aktiviert werden kann. Regeneriert nun noch zusätzlich über einer solchen Doppelbildung (Abb. 3, dFlb und vFlb) eine Einfachbildung (R) aus der Hypodermis, so entsteht eine aus zwei Komponenten zusammengesetzte Dreifachbildung des präsumptiven Flügelblattes, welche in 2 verschiedenen Peripodialsäcken in der Leibeshöhle liegt (Abb. 3, 1. Kom-

[1] H. KROEGER, Roux' Arch. Entw.-Mech. Organ. *150*, 401 (1958).



Abkürzungsschlüssel

dU	dorsale Umstülpung der Flügelimaginalscheibe
dFlb	dorsales Flügelblatt
vFlb	ventrales Flügelblatt
Fltr	Flügeltracheen
Komp.	Komponente der Mehrfachbildung
Lac	Lakunen
Mim	Mittelmembran
Ps	Peripodialsack
R	Regenerat
Tru	In die «dU» einwachsende Trachee
Zu	Zugang der Leibeshöhle in die Flügelimaginalscheibe
Zw	hypodermales Zwischengewebe zwischen dFlb und vFlb

Abb. 1: Normale dorsale Umstülpung der Flügelimaginalscheibe (*Antheraea pernyi*). *Längsschnitt* × 1/110

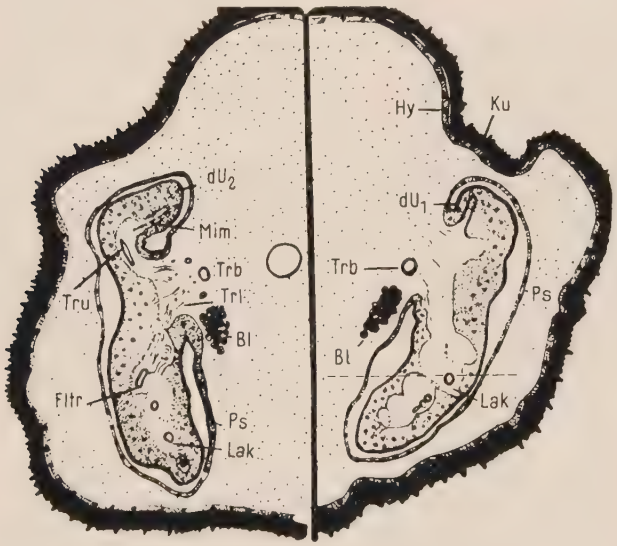


Abb. 2: a) *Auswachsende Umstülpung*, 5 Tage nach der Exstirpation des halben Flügelblattes (*Vanessa jo*). × 110; b) korrespondierende *Imaginalscheibe.* × *110*

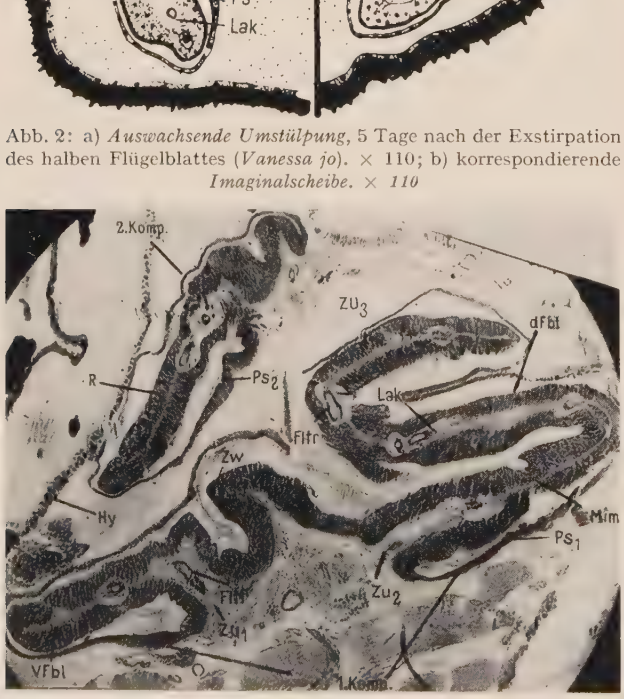


Abb. 3: *Dreifachbildung im 5. Stadium;* nach Ablösung der Flügelimaginalscheibe von der Hypodermis im 4. Stadium (*Sphinx ligustri*). × 110

ponente in Ps_1, 2. Komponente in Ps_2). Doch kann auch das (stets etwas nach dorsal verschobene) Regenerat eine Doppelbildung des präsumptiven Flügelblattes liefern und *vice versa* die (von der Hypodermis abgelöste und wieder mit ihr verwachsene) ursprüngliche Flügelanlage als Einfachbildung erhalten bleiben. Die im Vorpuppenstadium sodann aus dem Peripodialsack ausgestülpten Flügelblätter der Doppelbildung liegen untereinander; durch die oben schon erwähnte hypodermale Zwischengewebsbildung voneinander abgesetzt, lässt sich jedoch ihre ursprünglich einheitliche Entstehungsweise aus einer Flügelimaginalscheibe nicht mehr erkennen.

Durch die Selbständigkeit ihrer einzelnen Flügelblätter von den ineinandergeschobenen, miteinander verschmolzenen Mehrfachbildungen am Mehlmottenflügel[2] unterschieden, lassen sich diese aus zwei Bildungskomponenten zusammengesetzten Dreifachbildungen weit eher mit gewissen Naturfunden von Mehrfachbildungen[3] vergleichen, welche in ganz ähnlicher Weise (etwa nach Verletzungen der Flügelimaginalscheibe durch Abschürfungen der Raupenhaut) unter Beteiligung regulativer bzw. regenerativer Neubildungsprozesse auch in der freien Natur zustandekommen dürften.

M. E. Lemppenau

Zoologisches Institut der Universität Saarbrücken, 8. Februar 1960.

Summary

The latent potency of organ development in a normally functionless evagination on the upper border of the imaginal disc, causes double forms of the presumptive wing-leaf of caterpillars in lepidoptera. Triple forms of the wing-leaf consist of one double form and one simple form of the original imaginal disc of the wing and one regenerate, or *vice versa.*

[2] H. J. Pohley, Roux' Arch. Entw.-Mech. Organ. *149*, 146 (1957).
[3] K. Henke und J. Preiss, Roux' Arch. Entw.-Mech. Organ. *122*, 106 (1930).

Functional Union Between Hypoglossal and Postganglionic Parasympathetic Nerve Fibres

Observations on cross-sutures between nerves, made particularly by Langley and Anderson at about the turn of the century, were by Dale[1] interpreted to mean that functional union can be established only between nerves using the same chemical mediator. Dale could quote only one example of a successful connection between a postganglionic parasympathetic nerve and some other cholinergic nerve: Anderson[2] described in 1905 that eserine lost its miotic effect after extirpation of the ciliary ganglion but regained it after some months, probably when the pupillary sphincter had been reinnervated by preganglionic or somatomotor nerve fibres.

In a series of experiments on supersensitivity following denervation we have found another example showing that postganglionic parasympathetic fibres can be functionally replaced by other cholinergic fibres. In a cat in nembutal anesthesia the distal ends of the cut auriculo-temporal

[1] H. Dale, Proc. R. Soc. Med. *28*, Part. I, 319 (1934).
[2] H. K. Anderson, J. Physiol. *33*, 414 (1905).

nerves were sewn to the central end of the cut hypoglossal nerve. The sensitivity of the parotid gland to secretory drugs served as an indicator of degeneration and regeneration of nerves. The level of sensitivity of the glandular cells to methacholine was estimated at intervals in the following way. Each time the cat was anesthetized with a shortacting barbiturate (Baytinal Bayer) injected into the left ventricle, after preliminary ether; fine glass cannulae were inserted from the mouth into the parotid ducts; a series of doses of methacholine was given intracardially and the secretory responses were recorded. Following the parasympathetic denervation due to transsection of the auriculo-temporal fibres a supersensitivity to methacholine developed in the gland. Thus three weeks after the operation 5 µg/kg of the drug caused a flow of 14 drops from the denervated gland but less than 1 drop from the contralateral gland. About two months later the same responsiveness was found, but after about five more weeks the operated gland gave 8 drops only, and three months later less than 4 drops; the sensitivity of the control gland remained unchanged. An acute experiment was then carried out in chloralose anesthesia, about seven months after the cross-suture operation. Electrical stimulation of the hypoglossal nerve was now found to cause a flow of parotid saliva on the side of the operation; contralaterally no secretion was evoked by hypoglossal excitation. The secretory effect of hypoglossal stimulation was not affected by the injection of a ganglionic blocking agent, hexamethonium, even in large doses. It may be pointed out that reinnervated ganglia have been found to be extremely susceptible to the action of hexamethonium[3]. Atropine abolished the secretory effect of stimulation of the hypoglossal nerve.

It is concluded that the glandular cells had been reinnervated by cholinergic hypoglossal fibres regenerating into the postganglionic parasympathetic secretory nerves.

N. Emmelin, L. Malm, and R. Strömblad

Institute of Physiology, University of Lund (Sweden), February 25, 1960.

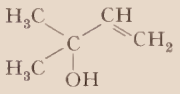
Zusammenfassung

Im Experiment mit Katzen zeigte es sich, dass Hypoglossusfasern in die postganglionären, parasympathischen sekretorischen Nervenfasern zur Parotisdrüse hineinwachsen können, so dass bei einer elektrischen Reizung des Nervus hypoglossus Sekretion erfolgt.

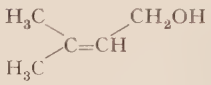
[3] N. Emmelin, A. Muren, and R. Strömblad, Acta physiol. scand. *41*, 18, 35 (1957).

Notiz über das Vorkommen isoprenoider C_5-Alkohole in ätherischen Ölen

Erst in jüngster Zeit ist bekannt geworden[1], dass die Pyrophosphate des Isopentenols (2-Methyl-3-buten-2-ol), Geraniols und Farnesols zentrale Zwischenprodukte der Steroid- bzw. Terpenbiogenese sind. Im besonderen scheint in der erstgenannten Verbindung das von der chemischen Isoprenregel seit jeher geforderte «biologische Äquivalent» des Isoprens nunmehr gefunden worden zu sein. Dabei ist von speziellem Interesse, dass bei der biosynthetischen Verknüpfung der Isopreneinheiten einem Isomerisationsprodukt des Isopentenol-pyrophosphats, nämlich dem β,β-Dimethyl-allyl-pyrophosphat, eine wesentliche Funktion zukommt. Während die formalen Hydrolyseprodukte des Geranyl- und Farnesyl-pyrophosphats, Geraniol und Linalool, bzw. Farnesol und Nerolidol, wohlbekannte Bestandteile ätherischer Öle sind, liegen unseres Wissens in der Literatur keine Angaben darüber vor, dass die entsprechenden Hydrolyseprodukte I und II des β,β-Dimethyl-allylpyrophosphats in freier Form als Naturprodukte aufgefunden worden wären[2].



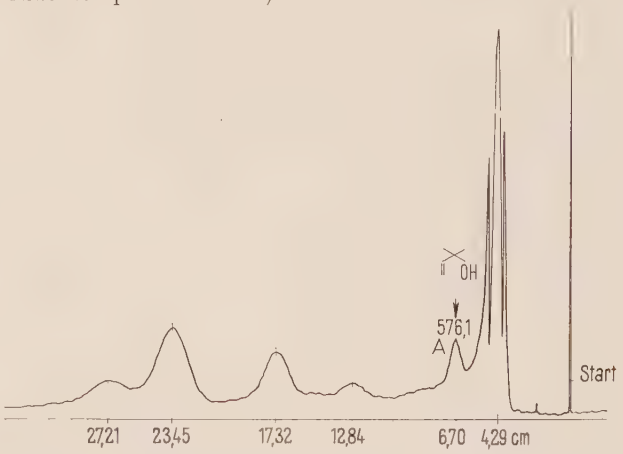
I



II

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Zusammensetzung gewisser ätherischer Öle haben wir nun vor einiger Zeit festgestellt, dass der freie β,β-Dimethyl-allyl-alkohol II ein natürlicher Bestandteil des Himbeeröls ist, und dass der isomere tertiäre Alkohol I im französischen Lavendelöl vorkommt. Da uns dieser Befund im Zusammenhang mit den eingangs erwähnten, neueren Erkenntnissen über die Terpenbiogenese von Interesse zu sein scheint, ist die Isolierung dieser beiden Alkohole Gegenstand der vorliegenden Notiz.

a) *2-Methyl-3-buten-2-ol(I) aus französischem Lavendelöl*[3]. Die in der Arbeit von Seidel, Schinz und Müller[4] erwähnte Fraktion 1 des von diesen Autoren untersuchten französischen Lavendelöls (Sdp. bis 70°C/11 Torr) wurde zur Abtrennung der darin vorhandenen grossen Menge von Äthyl-*n*-amylketon nochmals fraktioniert und die leichtflüchtigste Fraktion (8 g; Sdp. 35–135°C/720 Torr) gaschromatographisch untersucht. Ein analytisches Gaschromatogramm zeigte das folgende Bild (stationäre Phase: Apiezon L auf Celite; mobile Phase Helium; Kolonnentemperatur 130°C):



Gaschromatogramm der leichtflüchtigsten Fraktion des Lavendelöls (Sdp. $_{720}$ 35–135°C)

[1] H. Rilling, T. T. Tchen und K. Bloch, Proc. nat. Acad. Sci., Wash. *44*, 167 (1958). – F. Lynen, H. Eggerer, U. Henning und I. Kessel, Angew. Chem. *70*, 738 (1958). – B. W. Agranoff, H. Eggerer, U. Henning und F. Lynen, J. Amer. chem. Soc. *81*, 1254 (1959). – F. Lynen, B. W. Agranoff, H. Eggerer, U. Henning und E. M. Möslein, Angew. Chem. *71*, 657 (1959).

[2] Hingegen sind verschiedene Naturstoffe bekannt, in welchen zum Beispiel β,β-Dimethyl-allyl-alkohol in verätherter Form vorliegt; vgl. zum Beispiel E. Späth *et al.*, Ber. dtsch. chem. Ges. *66*, 1137, 1146 (1933). – E. Späth und J. Bruck, Ber. dtsch. chem. Ges. *71*, 2708 (1938).

[3] Betreffend die Isolierung dieses Alkohols aus einem Lavendin-Öl vergleiche eine demnächst erscheinende Arbeit von P. A. Stadler.

[4] C. F. Seidel, H. Schinz und P. H. Müller, Helv. chim. Acta *27*, 663 (1944).

Die präparative Abtrennung der Komponente A aus diesem Gemisch wurde gaschromatographisch in zwei Arbeitsgängen vollzogen. Ein erstes Chromatogramm an einer Kolonne von Emulphor 0 ($T = 130°C$) ergab ein noch nicht ganz homogenes Produkt. Nach nochmaliger Reinigung an einer Kolonne von Apiezon L ($T = 110°C$) wurden 60 mg einer gaschromatographisch praktisch einheitlichen Substanz mit den nachfolgend beschriebenen Eigenschaften erhalten.

IR-Spektrum: Banden bei 3480 (s), 3080 (w), 1840 (w), 1647 (w), 1467 (m), 1415 (m), 1370 (s), 1292 (w), 1235 (m), 1190 (Schulter), 1150 (s), 1028 (w), 991 (m), 949 (s), 918 (s), 890 (m), 726 (w), 685 (w) cm^{-1}, praktisch identisch mit dem IR-Spektrum von authentischem 2-Methyl-3-buten-2-ol.

Retentionsindices[5]: $I^A_{130} = 576$; $I^P_{130} = 904$ (Vergleichsprodukt: $I^A_{130} = 576$; $I^P_{130} = 892$). *p*-Nitrobenzoat: schwach hellgelb gefärbte Täfelchen aus Hexan vom Smp. 114 bis 115°C; Mischprobe mit Vergleichsprodukt (Smp. 115 bis 115,5°C) ohne Depression.

$C_{12}H_{13}O_4N$ Ber. C 61,27 H 5,57% Gef. C 61,08 H 5,65%

Das in KBr aufgenommene IR-Spektrum des *p*-Nitrobenzoats war mit jenem des authentischen Vergleichpräparats deckungsgleich.

b) *3-Methyl-2-buten-1-ol (β,β-Dimethyl-allylalkohol) (II) aus Himbeeröl.* Ein anlässlich einer eingehenden Untersuchung von Himbeeröl durch Girardierung carbonylfrei erhaltenes Neutralprodukt wurde in der üblichen Weise mit 3,5-Dinitro-benzoylchlorid umgesetzt und das Gemisch der 3,5-Dinitro-benzoate an der 50fachen Menge Kieselgur/Bentonit 1:4 chromatographiert. Mit Chloroform-Essigester (7:3) eluierte eine Fraktion, die sich im Papierchromatogramm (System DMF/Decalin[6]) als ein Gemisch von 3 Komponenten erwies. Mit Hilfe der präparativen Papierchromatographie auf 70 Blättern von je etwa 2 mg Substanz, im System DMF/Cyclohexan[7] konnte ein einheitliches 3,5-Dinitro-benzoat isoliert werden, welches nach viermaligem Umkristallisieren aus Petroläther einen konstanten Smp. von 69,5–71°C aufwies.

$C_{12}H_{12}O_6N_2$ Ber. C 51,43 H 4,32% Gef. C 51,41 H 4,69%

Die Mischprobe mit dem 3,5-Dinitro-benzoat von authentischem 3-Methyl-2-buten-1-ol (Smp. 71°C) zeigte keine Depression des Smp. Ebenso erwiesen sich die beiden 3,5-Dinitro-benzoate als identisch auf Grund der IR-Spektren (in KBr) und der R_f-Werte im Papierchromatogramm (System DMF/Decalin). Die Möglichkeit, dass ursprünglich der tertiäre Alkohol I im Naturprodukt vorgelegen und sich dieser während der Aufarbeitung in den primären Alkohol umgelagert hätte, trifft nicht zu, denn ein orientierender Versuch zeigte, dass der tertiäre Alkohol I unter den bei der Girardierung angewandten Bedingungen (Zersetzung mit Essigsäure) nicht in II umgelagert wird (Nachweis über 3,5-Dinitro-benzoat, Smp. 108°C)[8].

P. A. Stadler, A. Eschenmoser,
E. Sundt, M. Winter und M. Stoll

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich und Forschungslaboratorium Firmenich & Cie., Genf, 1. April 1960.

Summary

2-Methyl-3-buten-2-ol has been isolated from the oil of French lavender and 3-methyl-2-buten-1-ol from the oil of raspberry.

[5] Vgl. E. Kovats, Helv. chim. Acta *41*, 1915 (1958).

[6] E. Sundt und M. Winter, Analyt. Chem. *29*, 851 (1957).

[7] Ausführung wie mit Decalin. Vergleiche [6]. Cyclohexan als mobile Phase trennt im allgemeinen etwas schlechter als Decalin, bietet aber Vorteile bei der nachfolgenden Extraktion der Blätter.

[8] Die Analysen wurden in den mikroanalytischen Laboratorien der ETH (Leitung W. Manser) und der Firma Firmenich & Cie. (Leitung Dr. E. Palluy) ausgeführt.

Erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and Thalassemia

In family studies on patients suffering from Favism (the clinical syndrome caused by ingestion of the seeds or inhalation of the pollen from the flowers of *Vicia faba*), Marcolongo[1] noted that the Thalassemia abnormality was often found amongst the relatives of patients.

It is now well known that the erythrocytes in favism and in drug-induced hemolytic anemia are deficient in the enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase (Carson, Flanagan, Ickes, and Alving[2]; Sansone and Segni[3]; Szeinberg, Sheba, and Adam[4]). The presence of this enzyme may be detected by incubating hemolysates with glucose-6-phosphate and triphosphopyridine nucleotide (Coenzyme II) using the dye brilliant cresyl blue as an indicator of the reaction (Dickens and Glock[5]; Motulsky and Campbell[6]).

Using this simple method, blood samples from 7 subjects with Thalassemia major, 16 with Thalassemia minor (parents or relatives of subjects suffering from Thalassemia major or Hemoglobin E – Thalassemia), 6 with Hemoglobin E – Thalassemia and 6 with Hemoglobin-H Disease (Hemoglobin H – Thalassemia, Motulsky[7]) have been studied. Absence of the enzyme was found only in 3 of the cases with Hemoglobin-H Disease (all Chinese). In one instance, when it was possible to study the parents of a child with Hemoglobin-H Disease and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, the enzyme was deficient in the father and exhibited 'intermediate' activity in the mother, and neither showed Hemoglobin-H Disease. Amongst blood samples containing a variety of abnormal hemoglobins – 5 umbilical cord samples containing the hemoglobin of Fessas and Papaspyrou[8], 1 umbilical cord sample containing hemoglobin 'Alexandra' (Fessas, Mastrokalos, and Fostiropoulos[9]; Vella, Ager, and Lehmann[10]), 16 containing hemoglobins A and E, 1 containing hemoglobins A and L, and 2 containing only hemoglobin E – no instance of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency was found. In one sample (from a Chinese male child hospitalised for hemolytic anemia 15 days after birth) the enzyme deficiency was asssociated with the presence of the hemoglobin of Fessas and Papaspyrou.

[1] F. Marcolongo, Minerva Med. (Torino) *44*, 1963 (1953); Rec. Progr. Med. int. *15*, 137 (1953).

[2] P. E. Carson, C. L. Flanagan, C. E. Ickes, and A. S. Alving, Science *124*, 484 (1956).

[3] G. Sansone and G. Segni, Boll. Soc. ital. Biol. sper. *34*, 327 (1958).

[4] A. Szeinberg, C. Sheba, and A. Adam, Nature *181*, 1256 (1958).

[5] F. Dickens and G. E. Glock, Biochem. J. *50*, 81 (1951).

[6] A. G. Motulsky and J. M. Campbell, in F. Vella, J. Med. Malaya *13*, 298 (1959).

[7] A. G. Motulsky, Nature *178*, 1055 (1956).

[8] Ph. Fessas and A. Papaspyrou, Science *126*, 199 (1957).

[9] Ph. Fessas, M. Mastrokalos, and G. Fostiropoulos, Nature *183*, 30 (1959).

[10] F. Vella, J.A.M. Ager, and H. Lehmann, Nature *183*, 31 (1959).

It is not unlikely that the association of the factors for Thalassemia and for absence of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in erythrocytes presumably present in the families studied by MARCOLONGO was fortuitious, since both Thalassemia and Favism are common findings in Sardinia. The presence of this defect in 3 out of the 6 cases of Hemoglobin-H disease studied is interesting, particularly in view of the finding that absence of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity was found in 2·22% of 225 healthy Chinese male blood donors and in 2·63% of 76 Chinese male new-borns studied (VELLA). Absence of this enzyme in some cases of Hemoglobin-H disease may explain the severity of hemolysis occasionally seen in some patients.

F. VELLA

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Malaya in Singapore, September 14, 1959.

Résumé

L'activité de la glucose-6-phosphate déhydrogènase était normale dans les érythrocytes obtenus de sujets atteints de Thalassémie (majeure ou mineure) d'Hémoglobine E – Thalassémie et dans des érythrocytes contenant une variété d'hémoglobines anormales. Chez trois des six sujets atteints d'Hémoglobine H – Thalassémie, la glucose-6-phosphate déhydrogènase était absente.

Effect of Testosterone on the Nuclear Volume of Exorbital Lacrimal Glands of the White Rat (Glandula lacrimalis praeparotidea)

Recent studies have demonstrated that the exorbital lacrimal glands (Loewenthal' glands) of the white rat present a sexual dimorphism and that their morphology undergoes modifications after castration and/or administration of male sex hormones (GABE[1]; BAQUICHE[2,3]; DUCOMMUN *et al.*[4]). Similar observations were made by others, who have however erroneously considered this glands as a parotid gland, or as a part of it, owing to the close topographical relationships between these two structures (PARHON *et al.*[5]; CAVALLERO and PINI[6]).

Caryometric studies on exorbital lacrimal glands of the rat have been published by COLLIN and FLORENTIN[7], COLLIN and GRUJIC[8] and TEIR[9]. However, in these researches the attempt was made to determine the variability of the nuclear volumes and their distribution in normal conditions. Conversely, it has been our aim to establish whether castration and/or administration of testosterone propionate in the male rat is capable of inducing changes in the nuclear volumes of Loewenthal's glands, in order to give further support to the suggested rôle of these glands as a target organ of male sex hormones.

Twenty adult male white rats of the same strain, about two months old and weighing 150–200 g were employed; they were fed a standard diet and had free access to water.

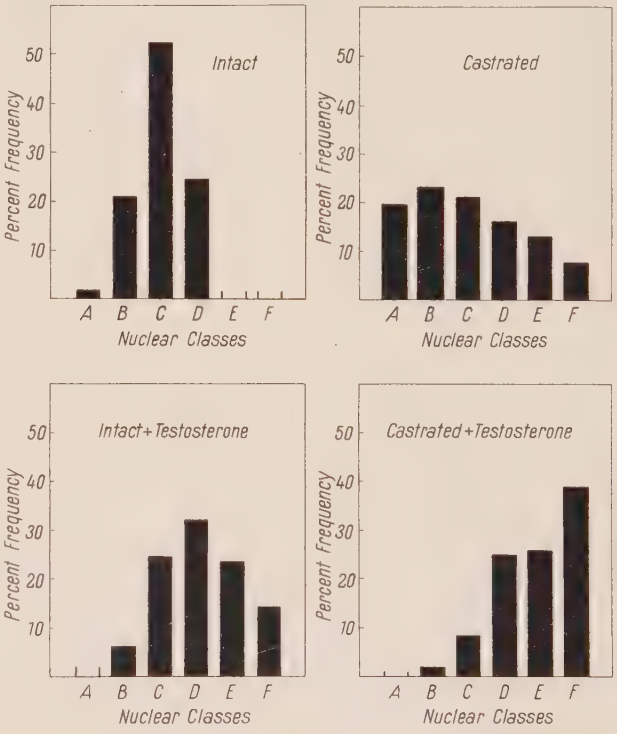
Two experimental groups of animals were considered: the first one was composed of intact rats, with and without testosterone treatment; in the second set, castrated rats, untreated and treated with the hormone, were examined, the orchiectomy having been performed 60 days before the beginning of the experiment. Testosterone propionate was given subcutaneously, dissolved in Tween 80, 1 mg daily for 20 days.

At the end of the experimental period the animals were killed by decapitation; the exorbital lacrimal glands were removed, fixed in Bouin's fluid, and embedded in paraffin. Nuclear volumes were measured in 10 μ sections, stained with hematoxylin-eosin. For the measurements, only regular nuclei were selected, 300 nuclei for each gland, and two perpendicular diameters measured at 2000 magnification. The volume V of the nucleus was calculated by means of the formula:

$$V = \pi/6\,[D_1 + D_2]^3/2,$$

where D_1 and D_2 are the two nuclear diameters considered. The values were grouped in to six classes, starting from a volume of less than 120 μ^3 up to a volume of more than 700 μ^3, and the relative percent frequency was calculated. The following nuclear classes were established: $A = < 120\ \mu^3$; $B = 121–199\ \mu^3$; $C = 200–299\ \mu^3$; $D = 300$ to $449\ \mu^3$; $E = 450–699\ \mu^3$; $F = > 700\ \mu^3$.

The results of the experiments are shown by histograms. Figure 1 refers to intact, untreated animals; it appears that normally the highest incidence of the nuclear volumes falls in the class between 200 and 299 μ^3 (mean nuclear volume 279 μ^3). Untreated rats, castrated two months earlier, present a wide dispersion of nuclear volumes, as shown by Figure 2, the highest incidence being at a lower level than in intact animals (mean nuclear volume 320 μ^3). Figure 3 and 4 refer to testosterone-treated rats; they



[1] M. GABE, C. R. Soc. Biol., Paris *149*, 223 (1955).
[2] M. BAQUICHE, Thèse Univ. Genève *5*, 1 (1958).
[3] M. BAQUICHE, Acta anat. *36*, 247 (1959).
[4] P. DUCOMMUN *et al.*, Acta endocrinol. *30*, 78 (1959).
[5] C. I. PARHON *et al.*, Bul. Sci. Seš. St. med. *7*, 3 (1955).
[6] C. CAVALLERO and C. E. PINI, Atti Soc. lomb. Sci. med. biol. *13*, 196 (1958).
[7] R. COLLIN and P. FLORENTIN, C. R. Soc. Biol., Paris *104*, 1279 (1930).
[8] R. COLLIN and M. GRUJIĆ, C. R. Soc. Biol., Paris *109*, 472 (1932).
[9] H. TEIR, Acta path. microbiol. scand., Suppl. *58* (1944).

indicate that this treatment causes a deviation to right of nuclear volumes, both in intact and castrated animals. A high percentage of the highest nuclear classes, up to and over 700 μ^3, is particularly evident in castrated, testosterone-treated rats. In the latter two groups, the mean nuclear volumes are 452 and 637 μ^3 respectively.

From our investigation it appears that castration in adult male rats elicits in exorbital lacrimal glands a relative prevalence of the lower nuclear classes. Moreover it appears that, both in intact and castrated animals, but more evidently in the latter, testosteronetreatment results in an increased percentage of the highest nuclear classes, i. e. in hypertrophic nuclear changes.

It is noteworthy that this nuclear hypertrophy is closely connected to the onset of structural changes of the glands; actually, it has been shown that testosterone treatment produces in the glands an alveolar structure, bearing a mucous secreting pattern, different from the acinar and serous one existing normally (Cavallero and Pini[6]).

These observations give further support to the view that the exorbital lacrimal glands of the white rat might be considered as a target organ of male sex hormones.

C. Cavallero and P. Morera

Istituto di Anatomia e Istologia patologica, Università di Pavia (Italy), May 30, 1959.

Riassunto

La ghiandola lacrimale extraorbitale (ghiandola di Loewenthal) del ratto albino presenta modificazioni nucleari in seguito a castrazione ed a somministrazione di propionato di testosterone. La castrazione determina una prevalenza delle classi nucleari più basse, mentre la somministrazione di ormone maschile aumenta la percentuale delle classi più alte. L'ipertrofia nucleare è al massimo evidente in ratti castrati e trattati con ormone.

PRO EXPERIMENTIS

Zur Methodik der Gefrierschnitt-Mikroautoradiographie

Das Studium der Verteilung inhalierten Radons im Tierkörper in mikroskopischen Dimensionen hat uns vor die Aufgabe gestellt, autoradiographisch Lokalisationen seines α-strahlenden Folgeproduktes RaF (= Po^{210}) nachzuweisen[1].

Die Gefahr einer Extraktion oder Translokation eines Radioelementes bei der üblichen histologischen Vorbehandlung des Gewebes ist bekannt und im vorliegenden Fall besonders gross, da weder das Radon noch seine Folgeprodukte in chemische Verbindungen eingebaut werden, weil der Zerfall des Radons in flüssiger Luft vor sich geht. Auch eine Fixierung durch Gefriertrocknung konnte nicht befriedigen, da bei der nicht zu umgehenden Einbettung des Gewebes in Paraffin oder Carbowachs die Möglichkeit einer innergeweblichen Verlagerung des Radioelements nicht auszuschliessen ist.

In üblicher Weise hergestellte Gefrierschnitte unfixierter Organe tauten während des Schneidens auf und zeigten keine einheitlichen Schnittdicken. Erst die Verwendung einer Spezial-Kühlkammer mit eingebautem Mikrotom[2] ermöglichte die Herstellung einwandfreier nativer Organschnitte und schaltete eine Verwischung der Aktivität aus.

Während Taugner und Wagenmann[3] nach Beendigung der Exposition Gefrierschnitt und Film voneinander trennen und das Autoradiogramm mit dem histologischen Bild eines Nachbarschnittes vergleichen mussten, erstrebten wir, den zur Erzeugung des Autoradiogramms benutzten Schnitt auch während des photographischen Entwickelns und allen weiteren Behandlungen mit dem Film in Kontakt zu belassen.

Wir erreichten dies auf folgende Weise:

Die 5 μ dicken Schnitte werden auf einem gereinigten, gut entfetteten Objektträger gestreckt. Auf der rauhen Oberfläche eines mit Gelatine überzogenen Objektträgers, wie man ihn üblicherweise für das stripping-Verfahren benutzt[4], erhält man keine faltenfreien Schnitte. Die Präparate bleiben noch etwa 2 h zur Trocknung im Innenraum des Kryostaten, werden dann entweder bis zum Folgetag in einer Kühltruhe bei – 20°C aufbewahrt oder unmittelbar durch kurzzeitiges Eintauchen in eine Chromalaungelatine-Lösung (0,5 g Chromalaun und 5,0 g Gelatine auf 1000 cm^3 aqua destillata) hauchdünn überzogen. Guidotti und Passalacqua[5] empfehlen eine Schutzschicht zwischen Gewebe und Film in Form eines Plexiglas-Überzugs (1%ige Lösung in Chloroform). Die Verwendung von Plexiglas hat den Nachteil, dass die Schnitte vor der Exposition gefärbt werden müssen, weil der Farbstoff die Schutzschicht nicht zu durchdringen vermag.

Während Expositionen über mehrere Wochen hinweg erfährt das native Gewebe leicht Veränderungen, die durch Aufbewahrung in der Kühltruhe bei – 15 bis – 20°C ausgeschaltet werden können. Die tiefen Temperaturen schaden zwar den Emulsionen nicht, setzen jedoch ihre photographische Empfindlichkeit herab[6]. Wir sind deshalb zur Kühlschrank-Exposition (2–4°C) zurückgekehrt, haben aber zur Minderung der Gewebsautolyse die Exposition in einer N_2-Atmosphäre in Präparatekästen im Exsikkator vorgenommen. Diese Massnahme reduzierte auch das «fading»[6–8]. Albouy und Faraggi[7] haben die Wirkung der Veränderung der Zusammensetzung der die Emulsion umgebenden Atmosphäre bei konstanter Temperatur und konstanter relativer Feuchtigkeit geprüft und fanden zum Beispiel für die ILFORD C2 Kern-Emulsion, dass die fading-Rate in reinem Sauerstoff doppelt so gross wie in Luft und zehnmal so gross wie in Stickstoff ist.

Die Schnitte lassen sich nach dem photographischen Entwickeln durch die beiden für Farbstoff (zum Beispiel Hämatoxylin nach Böhmer und Erythrosin) permeablen Schichten hindurch anfärben. Bei der Differenzierung in angesäuertem Alkohol entfärben sich die Gelatineschichten schneller als das Gewebe, so dass die in Glyzeringelatine eingedeckten Präparate mikroskopisch gut auswertbar sind (Abb.). Der Glyzeringelatine wurden zur Konservierung 0,5 g Karbolsäurekristalle/100 g Glyzeringelatine zugesetzt.

[1] A. Schraub, B. Rajewsky, E. Reinholz, Chr. Wirth und V. Belloch-Zimmermann, *Die Verteilung inhalierten Radons im Organismus*, Abhandlungen des IX. Int. Congresses für Radiologie (München 1959), im Druck.

[2] «Kryostat», System Dittes-Duspiva.

[3] R. Taugner und U. Wagenmann, Arch. exp. Path. Pharm. *234*, 336 (1958).

[4] G. A. Boyd, *Autoradiography in Biology and Medicine* (Acad. Press Inc., New York 1955).

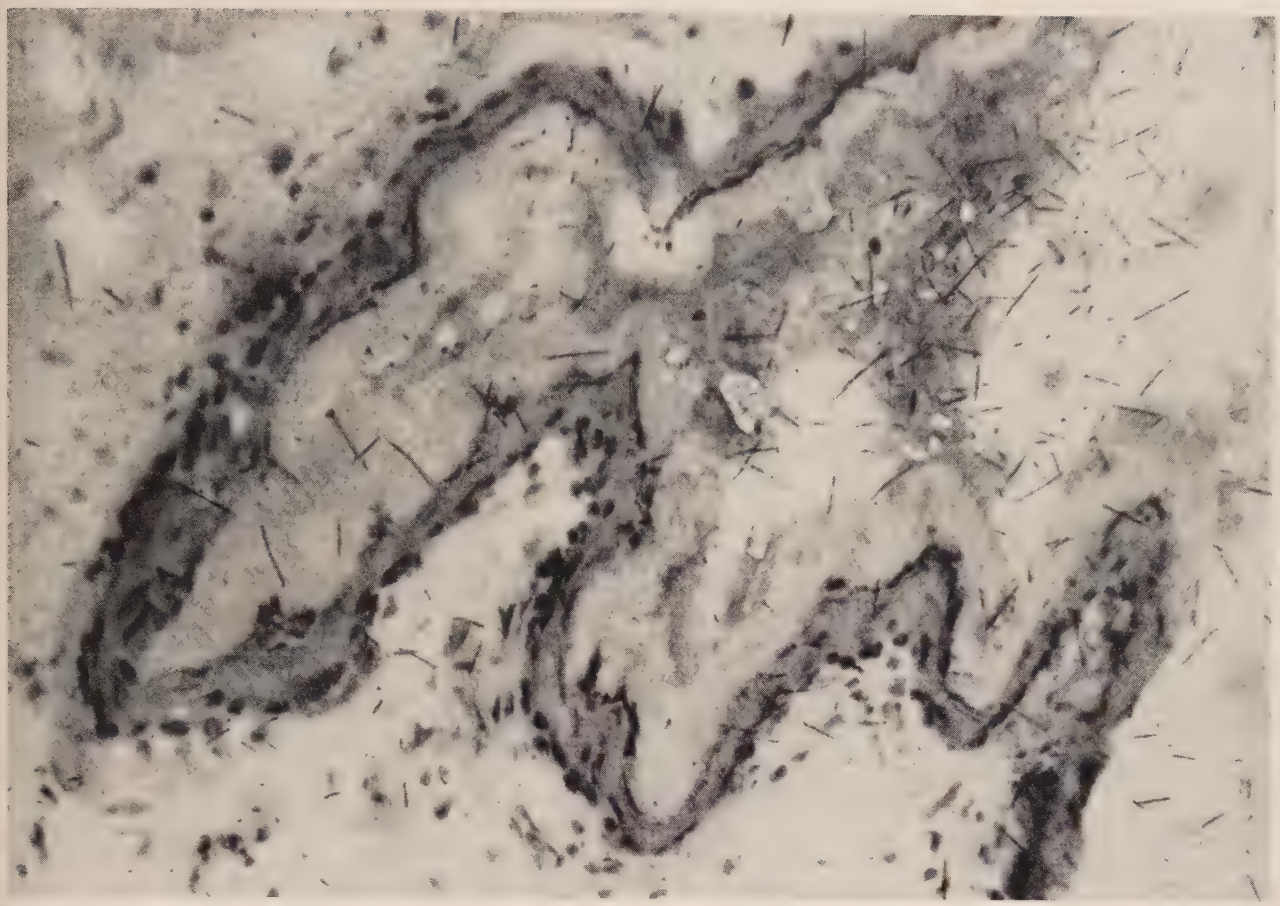
[5] G. Guidotti und F. Passalacqua, Exper. *12*, 117 (1956).

[6] A. Beiser, Rev. mod. Phys. *24*, 275 (1952).

[7] G. Albouy und H. Faraggi, J. Phys. Radium *10*, 105 (1949).

[8] W. Lohmann, Z. Naturf. *11a*, 592 (1956).

[9] B. Rajewsky, *Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939–1946*, Bd. 21, *Biophysik*, Teil I, p. 169.



5-μ-Gefrierschnitt von der *Tunica mucosa des Oesophagus* der Maus 70d lang Kodak AR 10-stripping exponiert. Vergrösserung 410 ×

Das Überziehen der Gefrierschnitte mit der Chromalaunschutzschicht bedingt, dass der stripping-Film ausgezeichnet haftet. Wir haben die häufig erwähnten Nachteile des stripping-Verfahrens, wie Werfen, Verziehen, Verschieben oder gar Abschwimmen des Films, niemals beobachtet.

Die beschriebene Methode gewährleistet eine eindeutige Zuordnung der α-Spuren zu den histologischen Strukturen und ermutigt uns, auf diese Weise die Frage der intrazellulären heterogenen Verteilung von Radioelementen anzugehen, da es möglich ist, in den 10 μ dicken Emulsionsschichten die Bahnspuren bis zu ihrem Ausgangspunkt zurückzuverfolgen.

Wir danken Fräulein G. Roth und Fräulein G. Seel für ihre interessierte und sorgfältige technische Mitarbeit.

Erna Reinholz, V. Belloch-Zimmermann und Christl Wirth

Max Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt a. M. (Deutschland), 22. Februar 1960.

Summary

A microautoradiographic technique for frozen sections is described. The method makes it possible to follow the distribution of inhaled radon in the organism with high degree of accuracy. After inhaling radon, the mice were killed and stored in liquid air (freezing method of Rajewsky[9]). The organ sections (5 μ thick) were prepared by means of a freezing microtome in the 'Kryostat'. A thin fixing and protecting layer of chromic alum gelatine was placed between the tissue-sections and the photographic emulsion. The exposure took place in an atmosphere of nitrogen.

Effet de divers bois sur certains micro-organismes *in vitro*

(2e communication)

Action du hêtre étuvé sur le bacille de Koch

Nous avons montré, dans une communication précédente[1], qu'en présence de certains échantillons de bois, la croissance *in vitro* de plusieurs micro-organismes est inhibée. Cette propriété est surtout remarquable pour le hêtre, mais seulement à condition que le bois soit étuvé préalablement (72 h à 150°C). Ayant voulu essayer le pouvoir inhibiteur du bois de hêtre vis-à-vis du mycobacterium tuberculosis, nous avons légèrement modifié la méthode décrite dans notre premier travail, afin de l'adapter à l'étude sur milieu solide.

Technique employée. Nous avons préparé simultanément des éprouvettes contenant, en plus de 8 cm³ d'eau physiologique, soit un morceau de hêtre étuvé (1 g), soit un morceau de hêtre non étuvé. Comme second contrôle, nous avons utilisé des éprouvettes avec de l'eau physiologique seule. Le tout a été stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant un quart d'heure. Nous avons alors préparé une suspension de bacilles de Koch dans de l'eau physiologique en partant de culture virulente. La suspension était fortement concentrée et se présentait, après avoir été mélangée pendant une demi-heure avec un agitateur magnétique, comme un liquide uniformément trouble.

[1] A. Maggiora, R. Brun und W. Jadassohn, Schweiz. Z. Path. Bakt. *22*, 621 (1959).

Cette suspension a été immédiatement répartie à raison de 30 gouttes dans chaque tube, soit ceux contenant le hêtre étuvé ou le hêtre non étuvé, soit ceux ne contenant que l'eau physiologique. Après 6 h, 12 h et 24 h respectivement, on préleva des échantillons du liquide de ces tubes et procéda à l'ensemencement sur milieu solide de Loewenstein, afin de voir si le contact bois-bacilles de Koch avait eu une influence sur ces derniers, de la façon suivante: pour cela 6 gouttes de chaque tube furent ensemencées sur le milieu de Loewenstein. Les éprouvettes contenant le milieu de Loewenstein furent ensuite gardées horizontalement pendant une demi-heure, afin de permettre aux bacilles de Koch de se fixer à la surface du milieu solide. Nous avons mis ensuite les tubes dans l'étuve à 37°C.

Résultats

a) *Milieu dont les bacilles de Koch ont été durant 6 h en contact avec le bois.* Les contrôles, les bacilles de Koch ayant été en contact avec le hêtre étuvé ou avec le hêtre non étuvé, ont donné, après une quinzaine de jours, des cultures tout à fait normales et les contrôles microscopiques ont démontré qu'il s'agissait bien de bacilles de Koch.

b) *Milieu dont les bacilles de Koch ont été durant 12 h en contact avec le bois.* Les contrôles et les bacilles de Koch ayant été en contact avec le hêtre *non étuvé* ont donné, après une quinzaine de jours, des cultures tout à fait normales.

Les tubes contenant les bacilles de Koch ayant été en contact pendant 12 h avec le hêtre *étuvé* ont bien montré aussi la présence de colonies visibles, mais avec une dizaine de jours de retard.

c) *Milieu dont les bacilles de Koch ont été 24 h en contact avec le bois.* Les contrôles et les prélèvements effectués dans les tubes contenant le hêtre *non étuvé* ont donné, après une quinzaine de jours, des cultures tout à fait normales.

Par contre, les bacilles de Koch qui avaient été en contact 24 h avec le bois *étuvé* n'ont donné lieu au développement d'aucune colonie de bacilles de Koch. Etant donné que cette expérience a été répétée trois fois, la première datant de 4 mois avant la rédaction de ce texte et que les cultures ont été contrôlées jusqu'à aujourd'hui, nous croyons pouvoir affirmer que le bois de hêtre étuvé, resté en contact avec les bacilles de Koch pendant 24 h, a pour effet de rendre impossible la mise en évidence du bacille de Koch par repiquage sur milieu de Loewenstein.

A. Maggiora, R. Brun et W. Jadassohn

Clinique Universitaire de Dermatologie, Genève, le 28 décembre 1959.

Summary

Mycobacterium tuberculosis was brought into contact with stoved beech-tree wood in physiological saline solution. After a contact of 6, 12, and 24 h, respectively, between the beech-wood and the suspension of microorganisms in saline, this latter was sowed on Loewenstein culture medium. The suspensions which were in contact with the beech-wood for 6 h, gave cultures not different from the controls without wood. With the 12 h ones, the growth of mycobacterium tuberculosis was greatly delayed, whereas with the 24 h ones the cultures remained sterile.

CONGRESSUS

SWITZERLAND

6th International Congress of Internal Medicine

Basle, August 24th–27th, 1960

The 6th International Congress of Internal Medicine, August 24th–27th, 1960, Basle (Switzerland) is organized by the International Society of Internal Medicine (President: Sir Russell Brain, F.A.C.P. Hon., London).

President of the Congress: Prof. Dr. A. Gigon, Basle. Secretary: Prof. Dr. H. Ludwig, Basle.

Official languages: German, French, English. Simultaneous translation for the principal lectures. Programmes and registration forms for the congress may be obtained from the secretary of the 6th International Congress of Internal Medicine, Steinentorstrasse 13, Basle 10 (Switzerland). Registrations should reach the secretary if possible by April 30th, 1960.

FRANCE

1er Congrès International d'Histochimie et de Cytochimie

Paris, 28 août au 3 septembre 1960

En 1960, du 28 août au 3 septembre, aura lieu à Paris, le 1er Congrès International d'Histochimie et de Cytochimie. Président: Professeur Jean Verne.

Toute la correspondance relative au Congrès peut être adressée à Dr R. Wegmann, Institut d'Histochimie Médicale, 45, rue des Saints-Pères, Paris 6e (France).

U. S. A.

XVIth International Congress of Zoology

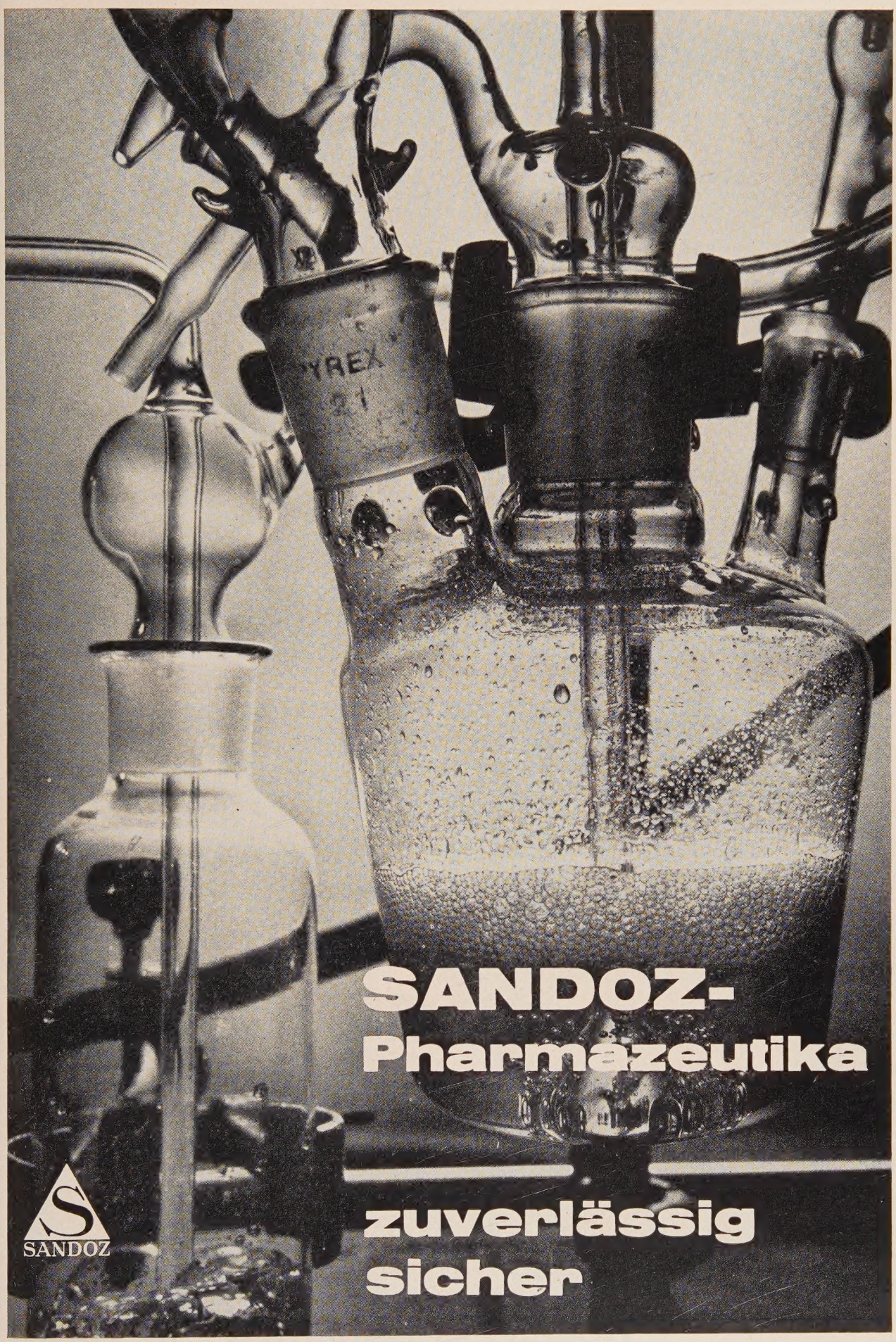
Washington, D. C., August 21–27, 1963

The XVIth International Congress of Zoology will be held in Washington, D. C., August 21–27, 1963, under the presidency of Dr. Alfred S. Romer, Alexander Agassiz Professor of Zoology and Director of the Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Cambridge, Massachusetts.

NOTA

UNIVERSITATI BASILIENSI QUINGENARIAE BASILIENSES QUI SUNT EXTRA MUROS

Redaktionelle Bemerkung: Die Arbeiten der Autoren E. A. Zeller, *Studies on the Active Center of Monoamine Oxidase* und H. Moser, *Modern Approaches to the Study of Mammalian Cells in Culture*, die in diesem Jubiläumsheft nicht mehr Aufnahme gefunden haben, erscheinen in Experientia im Laufe des Jahres 1960.

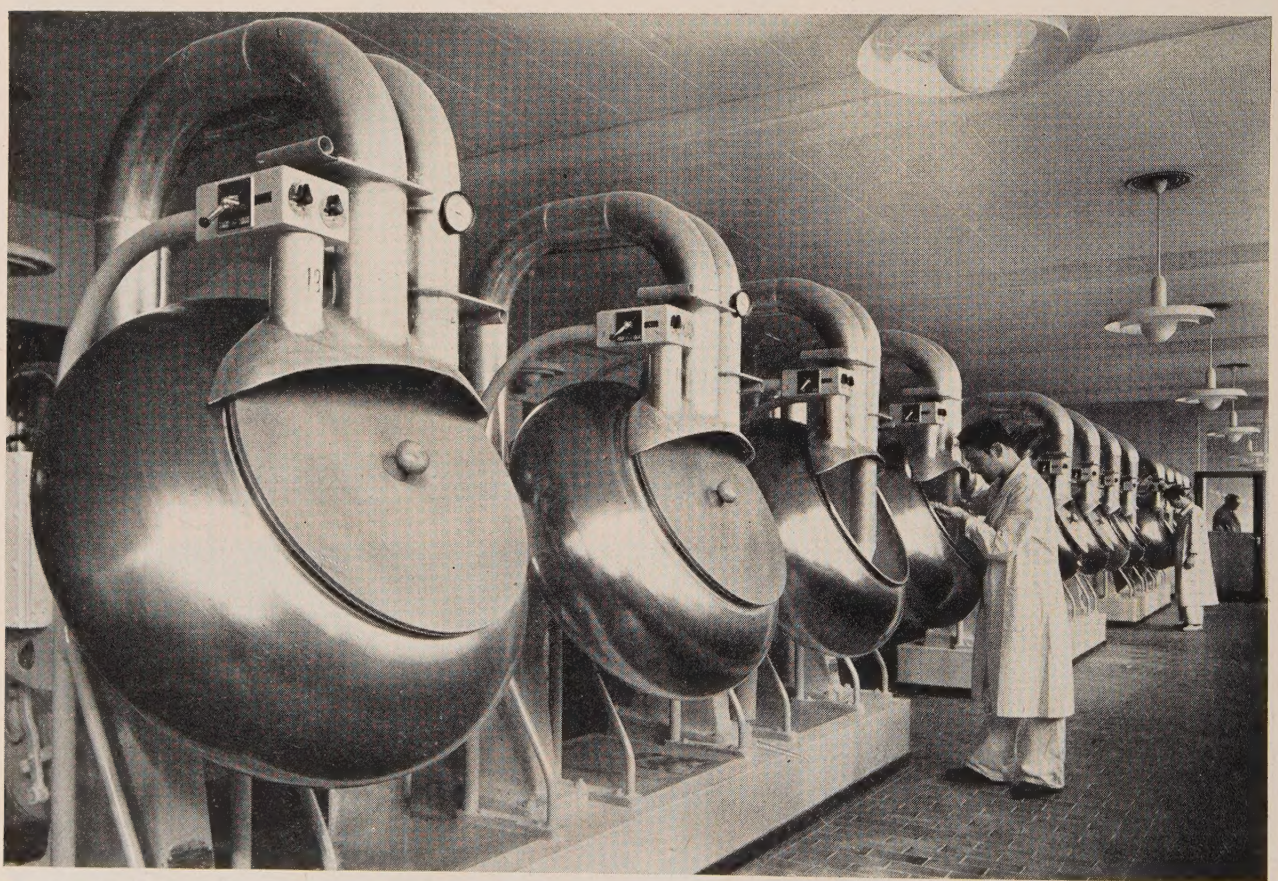

SANDOZ-
Pharmazeutika
zuverlässig
sicher
SANDOZ

Emser Werke AG

Wir suchen für unsere *Verkaufsabteilung in Zürich* je einen

Chemiker

mit abgeschlossenem Hochschulstudium und einen Absolventen eines schweizerischen Technikums.
Es handelt sich um interessante und entwicklungsfähige Positionen im Verkauf, verbunden mit der Beratung unserer Kunden in der Schweiz sowie im europäischen und überseeischen Ausland.
Gute Kenntnisse der englischen, französischen und eventuell der spanischen Sprache sind unerlässlich. Eintritt nach Vereinbarung.
Wir bitten die Interessenten, handschriftliche Offerten mit Zeugniskopien, Lebenslauf, Foto und Gehaltsansprüchen an das Sekretariat der *Emser Werke* AG, Talacker 16, Zürich 22, einzureichen.



Dragiermaschinen KBC

Koehler, Bosshardt & Cie., Basel

Lonza

Lösungsmittel
Methylacetat, Aethylacetat, Butylacetat, Lösungsmittelgemische, n-Butanol

Organische technische Produkte
Formaldehyd, Acetaldehyd, Paraldehyd, Crotonaldehyd, Essigsäure, Essigsäureanhydrid, Natriumacetat, Vinylacetat monomer, Anilinöl, Nitrobenzol, Dicyandiamid, Metaldehyd

Organische Zwischenprodukte
Acetessigäthylester, Acetessigmethylester, Phenylmethylpyrazolon, Acetessiganilid, Acetessig-o-chloranilid und andere Acetessigarylamide, Acetylaceton, Methyläthylpyridin, Nikotinsäure, Nikotinsäureamid, Acetonitril, Isobuttersäurenitril

Kunststoffe
Polyvinylchlorid in verschiedenen Qualitäten, Vinylchlorid/Vinylacetat-Mischpolymerisate, Polyvinylacetat-Dispersionen VIPOLIT®
Polymethylmethacrylat in Platten VOS®

Stickstoffprodukte
Ammoniak, Salpetersäure, Ammonnitrat, Natriumnitrat, Natriumnitrit, Ammonsulfat, Harnstoff

Stickstoff- und kombinierte Dünger
Kalksalpeter, Ammonsalpeter, Kalkstickstoff, Ammonsulfat, Nitrophosphat, Nitrophosphatkali, Nitrophosphatkali borhaltig, Volldünger Lonza®, Rebendünger Lonza®, Tabakdünger Lonza®, Lonzin® für Topfpflanzen, Composto Lonza®

Calciumcarbid

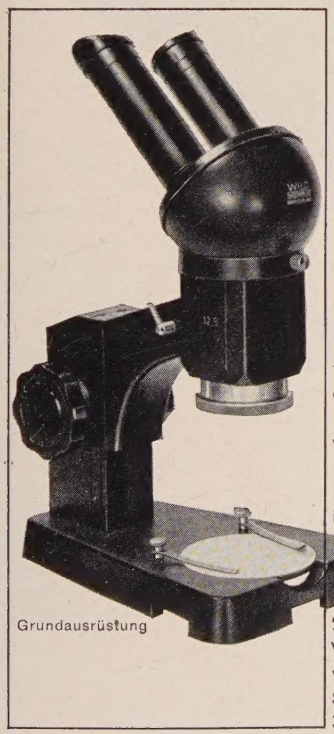
Ferro-Legierungen
Ferrosilicium, Ferrosilicium-Aluminium (Alsimin®, Feralsit®), Ferrosilicium-Mangan-Aluminium (Simanal®)

Siliciummetall (Reinsilicium)

Siliciumcarbid für schleif- und feuerfeste Zwecke sowie Lonsicar® als Betonhartstoff

Graphit min. 99,9 % C

LONZA ELEKTRIZITÄTSWERKE + CHEMISCHE FABRIKEN
AKTIENGESELLSCHAFT BASEL



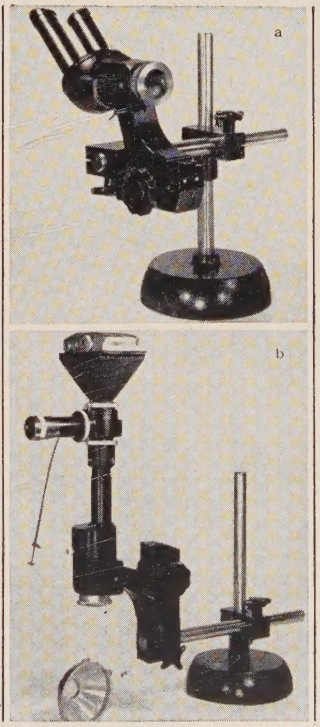
Grundausrüstung

Wild M4

Stereo-Mikroskop

Niedriger Anschaffungspreis für die Grundausrüstung, die sich nach dem «Baukastenprinzip» jederzeit und mit wenigen Handgriffen bis zum Forschungsstativ ausbauen lässt. ✚ Schweizer Präzisionsinstrument.

24 verschiedene Vergrösserungen im Bereich von 5-160fach. Sehfelddurchmesser bis 37 mm.

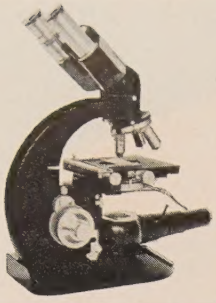


a) auf Schwenkarmstativ für die Beobachtung von Objekten in der Vertikalebene
b) auf Schwenkarmstativ mit mikrophotographischer Einrichtung

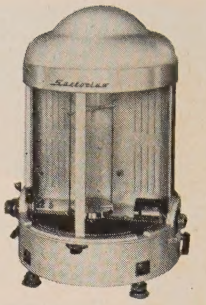
Prospekt mit technischen Daten durch die Optischen Werke Wild Heerbrugg AG., Heerbrugg/SG

WILD
HEERBRUGG

Volle Garantie für prompten Service und zuverlässige Nachlieferung von Ersatzteilen durch ✚ Schweizer Unternehmen von Weltruf.

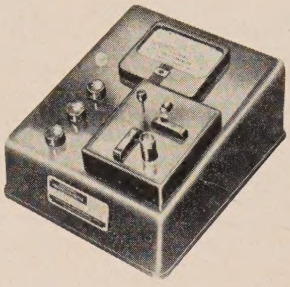


Reichert - Mikroskope
für histologische, biologische, chemische und metallographische Arbeiten



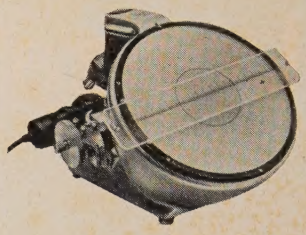
Sartorius - Analysenwaagen
Mikrowaagen
Präzisionswaagen
Sedimentationswaagen

Coleman - Spectro - Photometer
Photo - Fluorometer
Nephelometer
Stickstoff - Analysatoren



3 Weltmarken, die seit Jahrzehnten im Dienste der wissenschaftlichen und industriellen Forschung stehen

Über den gegenwärtigen Stand der Lieferprogramme orientieren wir Sie gerne. Unterbreiten Sie uns Ihre Probleme



Petersgraben 33
Telephon 061 23 22 64

Carl Bittmann Basel

UCLAF

synthèses organiques

POUR USAGES

SCIENTIFIQUES
THÉRAPEUTIQUES
INDUSTRIELS
AGRICOLES

uclaf

U-24-PR